

10/561022

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP 2004/002920

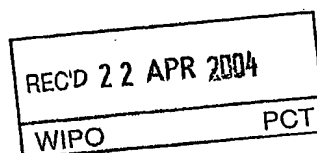
05.3.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    6 月 1 7 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 1 7 2 1 3 2  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 1 7 2 1 3 2 ]



出 願 人                      明 治 乳 業 株 式 会 社  
Applicant(s):

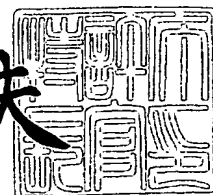
CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年    4 月    9 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 2 9 3 1 4



特願 2003-172132

ページ: 1/

【書類名】 特許願

【整理番号】 M1-X0301

【特記事項】 特許法第30条第1項の規定の適用を受けようとする特  
許出願

【提出日】 平成15年 6月17日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

    【住所又は居所】 宮城県仙台市青葉区国見6丁目9-8

    【氏名】 齋藤 忠夫

【発明者】

    【住所又は居所】 宮城県仙台市宮城野区幸町2-5-35 幸町アヴェニ  
        ュー110号

    【氏名】 下里 剛士

【発明者】

    【住所又は居所】 宮城県仙台市泉区南中山4丁目9-9

    【氏名】 北澤 春樹

【特許出願人】

    【識別番号】 000006138

    【氏名又は名称】 明治乳業株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100102978

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 清水 初志

【選任した代理人】

    【識別番号】 100108774

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 橋本 一憲



【手数料の表示】

【予納台帳番号】 041092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 Toll様レセプター強制発現細胞の利用

【特許請求の範囲】

【請求項1】 被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法であって、

(a) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、被験試料を接触させる工程

(b) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定される方法。

【請求項2】 以下の(a)および(b)の工程を含む、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法。

(a) 請求項1に記載の評価方法により、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価する工程

(b) 複数の被験試料から、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する工程

【請求項3】 請求項2に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法。

【請求項4】 被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する方法であって、

(a) 被験微生物から抽出物を調製する工程

(b) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、該抽出物を接触させる工程

(c) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定され

る方法。

【請求項 5】 以下の (a) および (b) の工程を含む、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法。

(a) 請求項 4 に記載の評価方法により、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する工程

(b) 複数の被験微生物から、腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物を選択する工程

【請求項 6】 請求項 5 に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法。

【請求項 7】 微生物が乳酸菌であり、食品組成物が乳製品である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】 微生物が細菌である、請求項 4 ～ 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】 細菌が乳酸菌である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 腸管組織において発現している Toll 様レセプターをコードする DNA を有する発現ベクターを細胞に導入する工程を含む、腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法。

【請求項 11】 腸管組織において発現している Toll 様レセプターを強制発現させた細胞を、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法。

【請求項 12】 腸管組織が腸管リンパ系組織である、請求項 1 ～ 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】 Toll 様レセプターがブタ由来である、請求項 1 ～ 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】 Toll 様レセプターが Toll 様レセプター 9 である、請求項 1 ～ 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】 請求項 1 ～ 9 のいずれかに記載の方法に用いるための、腸

管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞。

【請求項 17】 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入することで製造される、腸管免疫担当細胞のモデル細胞。

【請求項 18】 腸管組織が腸管リンパ系組織である、請求項 16 または 17 に記載の細胞。

【請求項 19】 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、請求項 18 に記載の細胞。

【請求項 20】 Toll様レセプターがブタ由来である、請求項 16～19 のいずれかに記載の細胞。

【請求項 21】 Toll様レセプターがToll様レセプター9である、請求項 16～19 のいずれかに記載の細胞。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、Toll様レセプター強制発現細胞の利用法に関する。

【0002】

【従来技術】

生体の免疫システムには先天的な自然免疫と後天的に生じる獲得免疫の2種類がある。ヒト等の高等生物にしか存在しない獲得免疫に対して、自然免疫は昆虫からヒトまで広く保存された免疫機構である。自然免疫を担当する細胞（マクロファージや樹状細胞等）は外界からの病原細菌等が侵入すると、すばやくこれを探知し、食作用等の直接的な攻撃に加え、サイトカイン等の警戒シグナルを発して獲得免疫系を活性化するという感染防御の第一段階として機能している。この様な一連の免疫反応システムにおいて最初のきっかけとなる細菌を発見する役目を果たしている受容体タンパクがToll様レセプター（Toll-like receptor; TLR）である。TLRは現在までにヒトにおいて10種類が同定されており、それぞれのTLRは認識する分子構造が異なるものと考えられている（非特許文献1）。その中で2000年に審良らの研究グループによって報告されたTLR9は細菌のDNA、特にC

pGモチーフを認識するレセプターとして同定された（非特許文献2、特許文献1）。

#### 【0003】

すでに、リポペプチドがヒトTLR2を強制発現させたCHO細胞におけるNF- $\kappa$ Bの発現活性に与える影響について、また、病原性大腸菌由来CpG DNAの様々なモチーフがヒトTLR9を強制発現させたHEK293細胞におけるサイトカイン(IL-8)の産生量に与える影響について報告されている（非特許文献3～5）。

#### 【0004】

尚、本出願の発明に関連する先行技術文献情報を以下に示す。

【特許文献1】 特開2002-34565

【非特許文献1】 O. Takeuchi, S. Akira, International Immunopharmacology 1 (2001) 625-635

【非特許文献2】 H. Hemmi et al, Nature 408 (2000) 740-745

【非特許文献3】 Yoshimura A. Takada H. Kaneko T. Kato I. Golenbock D. Hara Y. Structural requirements of muramylpeptides for induction of Toll-like receptor 2-mediated NF-kappaB activation in CHO cells. Journal of Endotoxin Research. 6(5):407-10, 2000.

【非特許文献4】 Klinman DM. Takeshita F. Gursel I. Leifer C. Ishii KJ. Verthelyi D. Gursel M. CpG DNA: recognition by and activation of monocytes. Microbes & Infection. 4(9):897-901, 2002 Jul.

【非特許文献5】 Takeshita F. Leifer CA. Gursel I. Ishii KJ. Takeshita S. Gursel M. Klinman DM. Cutting edge: Role of Toll-like receptor 9 in CpG DNA-induced activation of human cells. Journal of Immunology. 167(7):3555-8, 2001 Oct 1.

#### 【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明者らはこれまでにプロバイオティック乳酸菌を含む乳業用乳酸菌由来のDNAモチーフが腸管免疫系において免疫賦活化機能を有することを明らかにしてきた (H. Kitazawa et al, Int. J. Food Microbiol. 65 (2001) 149-162、H. K

itazawa et al, Int. J. Food Microbiol, (2003) in press)。本発明者らは、この知見からTLR9が病原細菌由来DNAのみならず、食餌性乳酸菌由来のDNAに対しても認識性を持ち、免疫の活性化に寄与する可能性を考えた。多様なDNAモチーフに対する認識性および活性評価系の構築が可能となれば、今後、病原性細菌の負の評価のためのみならず、乳業用乳酸菌を用いた機能性食品開発の上で重要なツールとなる。

#### 【0006】

機能性食品の開発を考える場合、最終的にヒトに対する効果を評価する必要があるが、その基礎的知見を得るためには、動物細胞および実験動物を用いた検討が必要不可欠となる。そこで本発明では、実験対象動物として、臓器移植等の観点からヒトモデル系としてその利用性が期待され、また食品産業の面から大きな価値を持つブタに着目し、ブタのTLR9遺伝子のクローニングと、その遺伝子を導入し強制発現させた動物細胞を作製し、機能性DNA評価系のためのTLR9強制発現細胞を構築することを考えた。

#### 【0007】

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、TLR強制発現細胞の利用法を提供することを目的とする。

#### 【0008】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、病原細菌由来のCpG DNAモチーフを認識する受容体タンパクToll様レセプター9遺伝子をブタ腸管パイエル板よりクローニングし、ブタTLR9 (sTLR9) を強制発現させた動物細胞 (トランスフェクタント) を作製した。動物細胞におけるsTLR9タンパクの発現の有無は、sTLR9に対するポリクローナル抗体を作成し、同抗体を用いて確認した。さらに、sTLR9トランスフェクタントのCpG DNAに対する機能性を解析し、乳酸菌DNAの活性評価系への応用を目指した。

#### 【0009】

具体的には、下記(1)～(5)を行った。

(1) ブタ腸管パイエル板よりTotal RNAを抽出し、ヒトおよびマウスTLR9遺伝子における保存性の高い領域より作製したプライマーを用いてRT-PCR法、RACE法



によりブタTLR9遺伝子をクローニングし、その全遺伝子配列を決定した。

(2) 遺伝子情報から得られたブタTLR9全アミノ酸配列から抗原決定基部位を探索し、選抜した領域をペプチド合成しブタTLR9ポリクローナル抗体作製用抗原とした。抗原は化学合成後、定法によりウサギに免疫し、ブタTLR9に対するポリクローナル抗体を作成した。

(3) ブタTLR9遺伝子をHEK293T細胞(ヒト胎児腎細胞)に導入し、ブタTLR9遺伝子導入細胞(トランスフェクタント)を作製した。

(4) ブタTLR9のHEK293Tにおける発現については、ブタTLR9 mRNAの発現をRT-PCR法により、また、ブタTLR9膜タンパクの発現をブタTLR9ポリクローナル抗体による免疫染色法によりレーザー顕微鏡およびフローサイトメーターを用いて確認した。

(5) ヒトおよびマウス細胞を強く刺激する特異的CpG DNAモチーフを含むオリゴDNA(それぞれCpG2006, CpG1826)に対する反応性を解析した。

#### 【0010】

検討の結果、ブタTLR9遺伝子は1029残基(MW:115.8)のアミノ酸をコードする3090塩基からなり、その遺伝子を含め3145塩基のcDNA塩基配列を決定することができた。ブタTLR9のアミノ酸配列はヒトTLR9に対して82.9%と非常に高く、マウスTLR9には74.9%の相同性を示したことから、ヒトTLR9に対してマウスよりも比較的高い相同性を示すことが明らかとなった。ブタTLR9トランスフェクタントにおけるブタTLR9タンパク質はRT-PCR法およびブタTLR9ポリクローナル抗体の免疫染色から確実に発現し、膜タンパク質として発現したことを確認できた。このことは、ブタTLR9トランスフェクタントの作製に成功したことを意味する。本トランスフェクタントを用いたCpG DNAに対する機能性解析よりブタTLR9はCpG1826よりもCpG2006に対して強い反応性を示したことから、ブタTLR9はマウス特異的CpG DNAモチーフよりも比較的高いヒトのモチーフに対する認識性が高いことが判明した。Real-time PCR法によりmRNAの発現量を各種組織において比較した結果、驚くべきことに、腸管免疫系で中心的な役割を果たすパイエル板および腸管膜リンパ節において、脾臓の3倍以上のmRNAが発現していることが判明した。

#### 【0011】

即ち、本発明は、以下の〔1〕～〔21〕を提供するものである。

〔1〕 被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法であって、

(a) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、被験試料を接触させる工程

(b) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定される方法。

〔2〕 以下の(a)および(b)の工程を含む、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法。

(a) 〔1〕に記載の評価方法により、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価する工程

(b) 複数の被験試料から、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する工程

〔3〕 〔2〕に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法。

〔4〕 被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する方法であって、

(a) 被験微生物から抽出物を調製する工程

(b) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、該抽出物を接触させる工程

(c) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定される方法。

〔5〕 以下の(a)および(b)の工程を含む、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法。

(a) [4] に記載の評価方法により、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する工程

(b) 複数の被験微生物から、腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物を選択する工程

[6] [5] に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法。

[7] 微生物が乳酸菌であり、食品組成物が乳製品である、[6] に記載の方法。

[8] 微生物が細菌である、[4] ~ [6] のいずれかに記載の方法。

[9] 細菌が乳酸菌である、[8] に記載の方法。

[10] 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入する工程を含む、腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法。

[11] 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞を、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法。

[12] 腸管組織が腸管リンパ系組織である、[1] ~ [11] のいずれかに記載の方法。

[13] 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、[12] に記載の方法。

[14] Toll様レセプターがブタ由来である、[1] ~ [13] のいずれかに記載の方法。

[15] Toll様レセプターがToll様レセプター9である、[1] ~ [13] のいずれかに記載の方法。

[16] [1] ~ [9] のいずれかに記載の方法に用いるための、腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞。

[17] 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入することで製造される、腸管免疫担当細胞のモデル細胞。

〔18〕 腸管組織が腸管リンパ系組織である、〔16〕または〔17〕に記載の細胞。

〔19〕 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、〔18〕に記載の細胞。

〔20〕 Toll様レセプターがブタ由来である、〔16〕～〔19〕のいずれかに記載の細胞。

〔21〕 Toll様レセプターがToll様レセプター9である、〔16〕～〔19〕のいずれかに記載の細胞。

#### 【0012】

##### 【発明の実施の形態】

免疫活性化に関与するToll様レセプター9 (Toll-like receptor 9; TLR9) は、脾臓において強く発現していることが知られていた (Zarembek KA. and Godowski PJ. Journal of Immunology. 168 (2002) 554-561)。これに対し、本発明者らは、TLR9が腸管リンパ系組織、特にパイエル板や腸管膜リンパ節において強く発現していることを初めて見出した。

#### 【0013】

腸管は体内と体外の境界組織として、経口摂取された栄養成分の吸収のみならず、外界からの刺激(細菌やウイルスなどの微生物、薬剤や食品添加物、食物に付着した農薬や環境汚染物質など)に常に接触しており、これら異物の受容、伝達、応答、および排除など種々の第一線生体防御機構(first defense line)が存在している (Mantis NJ. et al, J. Immunol. 169 (2002) 1844-1851)。さらに防御機構として特有のリンパ組織、腸管関連リンパ組織(GALT; gut-associated lymphoid tissue)が存在し、GALTは非集合性組成と集合性組成から構成され、非集合性組成には腸管上皮間リンパ球と粘膜固有層リンパ球が含まれ、集合性組成にはパイエル板、リンパ濾胞および腸管膜リンパ節が含まれる (Spahn TW. et al, Eur. J. Immunol. 32 (2002) :1109-1113)。パイエル板はリンパ組織関連上皮(Follicle-associated epithelium; FAE)に覆われ、腸管絨毛の存在しない部位でドーム形態をなしている。また、胚中心を持ちB細胞の存在する濾胞域(follicular area)と、ヘルパーT細胞を含む傍濾胞域(parafollicular area)を備えて

いる (Owen RL. *Sem. Immunol.* 11 (1999) 157-163)。腸管の局所免疫機構の最初の役割を果たす細胞として、FAEには特殊な上皮細胞であるMembranous epithelial cells(M cells; M細胞)が散在し、細胞質を通して基底表層へとつながる抗原のトンネルとしてリンパ球や樹状細胞、マクロファージなど抗原提示細胞(antigen presenting cell)との接触のためM細胞膜は深く陥入している。気管上皮粘膜においてもM細胞の存在は確認されており、結核菌などの病原体の入り口として貢献していることが報告されている (Teitelbaum R. et al, *Immunity.* 10 (1999) 641-650)。また、食品に含まれる機能性因子のみならず微生物や食物抗原の入り口としても存在することが認められている。腸管内の抗原(特に高分子)はM細胞に取り込まれた後、パイエル板の内部へと運ばれ、パイエル板内部の樹状細胞、マクロファージなどのMHC(major histocompatibility complex)クラスII陽性の抗原提示細胞に接触する (Kaneko K. et al, *J. Veterinary. Med. Sci.* 61 (1999) 1175-1177、Gebert A. et al, *American J. Pathology.* 154 (1999) 1573-1582、Jensen VB. et al, *Infection & Immunity.* 66 (1998) 3758-3766、Penheiter KL. et al, *Mol. Microbiol.* 24 (1997) 697-709、Debard N. et al, *Gastroenterology.* 120 (2001) 1173-1182、Gebert A. et al, *Int. Rev. Cytology.* 167 (1996) 91-159)。抗原刺激を受けたヘルパーT細胞はFcレセプターや抗体結合因子(IBF)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6を産生し、抗原提示を受け活性化したT細胞およびB細胞は循環帰巢(homing)という現象を開始し、腸管膜リンパ節を経て、胸腺に入り、体内循環して実行組織である腸管粘膜固有層、乳腺、涙腺、唾液腺、泌尿生殖器などに送られ、さらにB細胞は形質細胞となってIgAを産生する。分泌型IgAは、腸管およびその他の粘膜組織に侵入したウイルス、細菌、細菌毒素、アレルゲンなどを排除する役割を果たしている (Vaerman JP. et al, *Immunology.* 54 (1985) 601-603、Machtinger S. and Moss R. J. *Allergy. Clinical. Immunol.* 77 (1986) 341-347、Mathewson JJ. et al, *J. Infectious Diseases.* 169 (1994) 614-617)。さらにパイエル板の下には腸管膜リンパ節が発達し、パイエル板を越える多くのリンパ球、樹状細胞、マクロファージが待機している。このように、パイエル板や腸管膜リンパ節は、腸管免疫系(上記のような腸管に存在する免疫系)において中心的な役割を果たすことが知られてい

る。

#### 【0014】

一方、TLR4抗体、IRAK抗体を用いて、サルの腸管上皮からのFITC標識したTLR4のリガンドとして知られるLPS（リポポリサッカライド）の取り込みと腸管粘膜上皮細胞との関係について解析した結果、LPSが腸管上皮細胞中のTLR4とIRAKを発現する細胞により取り込まれ、粘膜固有層にまで運ばれる様子が観察された（Imaeda H. et al, Histochemical Cell Biology. 118 (2002) 381-388）。以上を考慮すると、TLR9等の腸管組織において発現しているTLRは、腸管免疫系に関与していると考えられる。

#### 【0015】

本発明は、以上の知見に基づき、被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法を提供する。該評価方法としては、まず、腸管組織において発現しているTLRを強制発現させた細胞（TLRトランスフェクタント）に、被験試料を接触させる。この工程により、被験試料を、トランスフェクタント表面のTLRに接触させる。次いで、該TLRトランスフェクタントにおけるシグナル伝達を指標に、該TLRの活性を測定する。該評価方法においては、該TLRの活性が、被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定される。

#### 【0016】

本発明において、被験試料としては、例えば、DNA、DNA断片、天然化合物、有機化合物、無機化合物、タンパク質、ペプチド等の単一化合物、並びに、化合物ライブラリー、遺伝子ライブラリーの発現産物、非哺乳動物細胞細胞培養上清、非哺乳動物細胞抽出物、発酵微生物産生物、微生物培養上清、微生物抽出物、海洋生物抽出物、植物抽出物等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。上記DNA断片としては、由来する生物に制限はないが、CpGモチーフ、ATモチーフまたはCpG様モチーフを有するDNA断片が好ましい。また、上記微生物抽出物としては、例えば、細胞壁、細胞膜、DNA、RNA、鞭毛等が挙げられる。また、該微生物としては、細菌、酵母等を例示できる。また、該細菌としては、病原性細菌、乳酸菌等を挙げることができる。上記被験試料は必要に応じて適

宜標識して用いることができる。標識としては、例えば、放射標識、蛍光標識等を挙げることができる。

#### 【0017】

また、本発明における腸管としては、十二指腸、空腸、回腸等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、本発明における腸管組織としては、特に制限はないが、好ましくは腸管リンパ系組織、より好ましくはパイエル板または腸管リンパ節、さらに好ましくは回腸由来パイエル板または回腸由来腸管リンパ節が挙げられる。

#### 【0018】

また、腸管組織において発現しているTLRには、全てのタイプのTLRが含まれ、例えばTLR1～TLR10が挙げられる。現在までに10種類のTLRの存在が報告されており、TLRファミリーはそれぞれ認識分子すなわち細菌性モデュリンが異なると考えられている。細菌性モデュリンとは、細菌に特異的な分子パターン (pathogen associated molecular patterns; PAMPs) で、宿主に対しサイトカイン誘導能を示し、免疫応答を制御するものと定義されている。また、TLRは、細胞外にロイシンリッチリピート (LRRs)、細胞内にインターロイキン1受容体と相同性のある領域 (TIRドメイン) を持つことが知られている。また、腸管組織において発現しているTLRが由来する生物としては、ブタ、ヒト、マウス、ネコ等、無脊椎、脊椎動物全般あるいは生物一般が挙げられる。

#### 【0019】

本発明におけるTLR9としては、例えば、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質が挙げられる。配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするDNAは、例えば、胸腺、肺臓、脾臓、十二指腸、パイエル板および腸管膜リンパ節よりRNAを調製し、逆転写酵素によりcDNAを合成した後、配列番号：1、3、5または7に基づいてオリゴDNAを合成し、これをプライマーとして用いてPCR反応を行い、上記タンパク質をコードするcDNAを増幅させることにより調製できる。

#### 【0020】

また、本発明におけるTLR9には、配列番号：2、4、6または8に記載のアミ

ノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質も含まれる。このようなタンパク質には、例えば、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質の変異体、アレル、バリエント、ホモログ等が含まれる。ここで「機能的に同等」とは、対象となるタンパク質が、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と同等の生物学的機能（生物学的役割）、生化学的機能（生化学的活性）を有することを指す。

#### 【0021】

TLRは菌体成分を認識すると細胞内シグナル伝達系路を活性化し、共通のアダプター分子MyD88を介してIL-1 receptor associated kinase (IRAK)、TNF receptor associated factor 6 (TRAF6)、そして転写因子であるNF- $\kappa$ Bの核移行を促し、最終的にtumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin(IL)-6、IL-12、IL-18、IFN- $\gamma$  などといった様々な炎症性サイトカインの産生や、細胞表面共刺激因子 (co-stimulatory molecule) の発現を誘導する (Kaisho T. and Akira S. Trends in Immunology. 22 (2001) 78-83)。TLRは主に病原体の糖質、脂質や核酸を認識することから、タンパクを認識する獲得免疫と相補的であるといえる。

#### 【0022】

すなわち、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質の生物学的機能、生化学的機能としては、微生物成分認識能、細胞内シグナル伝達系路の活性化能、炎症性サイトカイン発現誘導能、細胞表面共刺激因子発現誘導能などが挙げられる。

#### 【0023】

あるタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを調製する方法としては、ハイブリダイゼーション技術 (Sambrook, J et al., Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58, Cold Spring Harbor Lab. press, 1989) を利用する方法が挙げられる。即ち、配列番号：1、3、5または7に記載の塩基配列もしくはその一部を利用して、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離することができる。



## 【0024】

配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離するためのハイブリダイゼーションの条件は、当業者であれば適宜選択することができる。ハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、低ストリンジェントな条件が挙げられる。低ストリンジェントな条件とは、ハイブリダイゼーション後の洗浄において、例えば42℃、5xSSC、0.1%SDSの条件であり、好ましくは50℃、5xSSC、0.1%SDSの条件である。より好ましいハイブリダイゼーションの条件としては、高ストリンジェントな条件が挙げられる。高ストリンジェントな条件とは、例えば65℃、0.1xSSC及び0.1%SDSの条件である。これらの条件において、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAが効率的に得られると考えられる。但し、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響する要素としては温度や塩濃度等複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

## 【0025】

また、配列番号：1、3、5または7に記載の配列情報を基に合成したプライマーを用いる遺伝子増幅法、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法を利用して、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離することも可能である。

## 【0026】

これらハイブリダイゼーション技術や遺伝子増幅技術により単離されるDNAがコードする、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質は、通常、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質とアミノ酸配列レベルにおいて高い相同性を有する。高い相同性とは、アミノ酸レベルにおいて、少なくとも60%以上の同一性、好ましくは70%以上の同一性、より好ましくは80%以上の同一性、さらに好ましくは90%、よりさらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を指す。

## 【0027】

アミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and AltschulによるアルゴリズムBLAST(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている(Altschul et al. J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990)。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 100、wordlength = 12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 50、wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。

#### 【0028】

また、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が変異したアミノ酸配列からなるタンパク質も本発明に含まれる。このようなアミノ酸の変異は自然界においても生じうる。変異するアミノ酸数は、通常、30アミノ酸以内であり、好ましくは15アミノ酸以内であり、より好ましくは5アミノ酸以内であり、さらに好ましくは2アミノ酸以内である。

#### 【0029】

本発明の方法においては、上記TLRトランスフェクタントが使用される。該TLRトランスフェクタントは、腸管組織において発現しているTLRをコードするDNAを含む発現ベクターを細胞に導入することで製造することができる。該発現ベクターとしては、例えば、哺乳動物由来の発現ベクター（例えば、pcDNA3（インビトロゲン社製）や、pEGF-BOS (Nucleic Acids. Res. 1990, 18(17), p5322)、pEF、pCDM8）、昆虫細胞由来の発現ベクター（例えば「Bac-to-BAC baculovirus expression system」（インビトロゲン社製）、pBacPAK8）、動物ウイルス由来の発現ベクター（例えば、pHSV、pMV、pAdexLcw）、レトロウイルス由来の発現ベクター（例えば、pZIPneo）が挙げられる。

#### 【0030】

CHO細胞、COS細胞、NIH3T3細胞等の動物細胞での発現を目的とした場合には、細胞内で発現させるために必要なプロモーター、例えばSV40プロモーター（Mull

igan et al., Nature (1979) 277, 108)、MMLV-LTRプロモーター、EF1 $\alpha$ プロモーター (Mizushima et al., Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322)、CMVプロモーター等を持っていることが不可欠であり、細胞への形質転換を選抜するための遺伝子 (例えば、薬剤 (ネオマイシン、G418等) により判別できるような薬剤耐性遺伝子) を有すればさらに好ましい。

#### 【0031】

さらに、遺伝子を安定的に発現させ、かつ、細胞内での遺伝子のコピー数の増幅を目的とする場合には、核酸合成経路が欠損したCHO細胞にそれを相補するジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子 (dhfr遺伝子) を有するベクター (例えば、pCHO1等) を導入し、メトトレキセート (MTX) により増幅させる方法が挙げられ、また、遺伝子の一過性の発現を目的とする場合には、SV40 T抗原を発現する遺伝子を染色体上に持つCOS細胞を用いてSV40の複製起点を持つベクター (pcD等) で形質転換する方法が挙げられる。複製開始点としては、また、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス (BPV) 等の由来のものを用いることもできる。さらに、宿主細胞系で遺伝子コピー数増幅のため、発現ベクターは選択マーカーとして、アミノグリコシドトランスフェラーゼ (APH) 遺伝子、チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子、dhfr遺伝子等を含むことができる。

#### 【0032】

また、宿主細胞としては、例えば、哺乳類細胞、昆虫類細胞等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。哺乳類細胞としては、例えば、HEK293T細胞、CHO (J. Exp. Med. (1995) 108, 945)、COS、NIH3T3、ミエローマ、BHK (baby hamster kidney)、HeLa、Vero、昆虫類細胞としては、例えば、Sf9、Sf21、Tn5が知られている。

#### 【0033】

CHO細胞としては、特に、dhfr遺伝子を欠損したCHO細胞であるdhfr-CHO (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4216-4220) やCHO K-1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1968) 60, 1275) を好適に使用することができる。動物細胞において、大量発現を目的とする場合には特にCHO細胞が好ましい。また、宿主細胞としては、不死化した細胞株が好ましい。

## 【0034】

宿主細胞へのベクターの導入は、例えば、リン酸カルシウム法、DEAEデキストラン法、カチオンリポソームDOTAP（ロッシュダイアグノスティックス社製）を用いた方法、エレクトロポレーション法、リポフェクション等当業者に周知の方法で行うことが可能である。

## 【0035】


本発明においては、上記トランスフェクタントにおけるシグナル伝達を指標に、TLRの活性を測定する。TLRの活性は、例えば、サイトカイン（例えばIL-6、IL-12、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 等）の発現、シグナル伝達経路における分子（例えばNF- $\kappa$ B、JNK、IRAK等）の活性化等を指標に測定できる。サイトカインの発現は、mRNAレベルでもタンパク質レベルでも行うことが可能である。例えば、サイトカインのタンパク質レベルでの発現は、ヒトIL-6、IL-12、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  ELISA kit（株式会社ティエフビー（TFB, INC.））等の既存のヒト用キットを使用することで測定できる。また、シグナル伝達経路における分子の活性上昇は、ルシフェラーゼアッセイで行うことが可能である。例えば、ブタTLRトランスフェクタントにNF- $\kappa$ Bおよびルシフェラーゼ遺伝子を含むプラスミドベクター（pGLM-ENH）をトランスフェクションし、18時間後にリガンド（DNA等）で刺激する。刺激24時間後に細胞を溶解後、細胞溶解液を回収し測定まで-80℃で保存する。ルシフェラーゼ活性は、細胞溶解液にルシフェリンを含む反応液を添加後、2秒後から8秒間にわたる発光の変化を測定する。各試料で3回同様の操作を行い、その平均をとる。以上の測定で発光が強い程、NF- $\kappa$ Bの活性が強いことを示す。

## 【0036】

本発明はまた、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法を提供する。本発明におけるスクリーニング方法としては、上記評価方法を利用して、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価し、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する。

## 【0037】

また、腸管組織において発現しているTLRに結合する試料を予めスクリーニングし、これにより得られた試料を被験試料として用いてもよい。腸管組織におい



て発現しているTLRに結合する試料のスクリーニングに用いられるTLRは、組換えタンパク質であっても、天然由来のタンパク質であってもよい。また、スクリーニングに用いられるTLRは部分ペプチドであってもよい。腸管組織において発現しているTLRに結合する試料のスクリーニング方法としては、まず、複数の被験試料を腸管組織において発現しているTLRに接触させる。次いで、該TLRと被験試料との結合を検出する。次いで、該TLRと結合する被験試料を選択する。TLRと被験試料との結合は、当業者に周知の方法で検出できる。

**【0038】**

上記評価方法またはスクリーニング方法によって得られた試料は、免疫賦活化機能を有する試料として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

**【0039】**

さらに、本発明においては、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法を提供する。本発明の医薬組成物は、免疫賦活化機能を有する医薬組成物として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。また、本発明の医薬組成物は、好ましくはワクチンとして使用される。

**【0040】**

本発明の医薬組成物の製造方法においては、上記スクリーニング方法によって腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する。医薬上許容される担体としては、例えばアジュバント（抗体産生増強剤）が挙げられる。また、界面活性剤、賦形剤、着色料、着香料、保存料、安定剤、緩衝剤、懸濁剤、等張化剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤等も医薬上許容される担体として挙げられるが、その他常用の担体を適宜使用することができる。具体的には、軽質無水ケイ酸、乳糖、結晶セルロース、マンニトール、デンプン、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、中鎖脂肪酸トリグリセライド、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、白糖、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等を挙げることができる。このようにし

て製造された腸管免疫系を活性化する医薬組成物は、経口剤または注射剤として使用できる。

#### 【0041】

また、本発明は、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する方法も提供する。本発明における微生物としては、細菌、酵母等が例示できるが、これらに限定されるものではない。また、細菌としては、特に制限はないが、乳酸菌（例えば腸管常在乳酸菌や乳業用乳酸菌）が挙げられる。

#### 【0042】

該評価方法においては、まず、被験微生物から抽出物を調製する。微生物抽出物としては、例えば、細胞壁、細胞膜、DNA、RNA、鞭毛等が挙げられる。また、該DNAとしては、CpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片が好適である。このような抽出物は、当業者に周知の方法によって微生物から調製できる。

#### 【0043】

以下に、乳業用乳酸菌からCpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片の調整方法を例示するが、本発明の方法はこれに限定されない。

#### 【0044】

LactobacilliはLactobacilli MRS Broth(Difco laboratories, Detroit, MI, USA)で、StreptococciはElliker brothでそれぞれ3回継代培養(37℃, 24時間)後、50mlの培地に1%接種し、37℃で16時間培養する。菌体を遠心(3,000xg, 4℃, 20分間)集菌し、TE緩衝液(10mM Tris-Cl, 1mM EDTA pH7.5)で2回遠心(4,000xg, 4℃, 20分間)洗浄後、5.0mlのTE緩衝液に再懸濁する。この菌液に、2.5mlのリゾチーム(生化学工業、東京、30mg/ml)、20 $\mu$ lのN-アセチルムラミダーゼSG(生化学工業、東京、250 $\mu$ g/ml)を加え、37℃で10~30分間反応する。反応後、10mlの0.1M Tris-1% SDS溶液を添加し、穏やかに攪拌する。これにプロテイナーゼK(TaKaRa, 京都20mg/ml, 150 $\mu$ l)溶液を加え、37℃で一晩反応させる。反応後、5M NaCl溶液(2.5ml)を加え攪拌し、滅菌したビーカーに移す。100%エタノール(50ml)を加えることにより核酸を沈殿させ、生じた沈殿を滅菌したガラス棒を用いて巻き取り、70%エタノールで洗浄後、TE緩衝液(10ml)に溶解し、一晩4℃下で完全に溶

解させる。RNaseA (SIGMA, 10mg/ml, 100  $\mu$ l) を加え、37℃で60分間インキュベートした後、1/10量の5M NaCl (1ml) 及び等量の100%エタノールを加え、核酸を沈殿させる。生じた沈殿を滅菌したガラス棒を用いて巻き取り、70%エタノールで洗浄後、TE緩衝液 (2ml) に溶解する。以上の操作でDNAが精製され、使用までの間4℃下で保存する。染色体DNAはSau 3A1 (制限酵素) により切断処理し、3%アガロースゲル電気泳動に供する。アガロースゲルよりDNAを回収し、プラスミドベクターにライゲーション後、クローニングしDNA配列をシーケンサーにて決定し、CpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片を調製する。

#### 【0045】

該評価方法においては、次いで、該抽出物をTLRトランスフェクタントに接触させる。次いで、該形質転換細胞におけるシグナル伝達を指標に、腸管組織において発現しているTLRの活性を測定する。該評価方法においては、該TLRの活性が、該抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定される。

#### 【0046】


また、本発明は、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法も提供する。該スクリーニング方法としては、上記評価方法を利用して、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価し、腸管免疫系を活性化すると評価された微生物を選択する。

#### 【0047】

上記評価方法またはスクリーニング方法によって得られた微生物は、免疫賦活化機能を有する微生物として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

#### 【0048】

腸管免疫系を活性化する微生物を使用することで、腸管免疫系を活性化する食品組成物を製造できる。本発明は、このような腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法もまた提供する。本発明の食品組成物の製造方法においては、上記スクリーニング方法によって腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する。食品上許容される担体としては、



例えば安定化剤、保存剤、着色料、香料等が挙げられる。

**【0049】**

本発明の食品組成物の好ましい態様としては、乳酸菌や酵母を含む食品、ドリンク等が挙げられる。乳酸菌や酵母を含む食品、ドリンクとしては、例えば乳製品が挙げられる。本発明の乳製品としては、発酵乳、チーズ、発酵食品（乳酸菌を含む食品、キムチ等）が挙げられる。これらは、当業者に周知の方法で製造できる。

**【0050】**

このようにして製造された食品組成物は、免疫賦活化機能を有する食品組成物（例えば機能性食品、健康食品、特定保健用食品等）として、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

**【0051】**

本発明者らは、TLRと腸管免疫との関連を初めて見出した。また、TLRは、自然免疫を担当する細胞（例えばマクロファージや樹状細胞等）に発現していることが知られている（Gordon S. Cell. 111 (2002) 927-930、Akira S. et al, Nature Immunology. 2 (2001) 675-680）。よって、本発明のTLRトランスフェクタントは、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として、例えば上記本発明の方法に使用できる。また、該TLRトランスフェクタントは、本発明の方法に用いる他の成分とともに、本発明の方法用のキットとして利用することもできる。

**【0052】**


本発明は、上記本発明の方法に利用できるTLRトランスフェクタント、該TLRトランスフェクタントを腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法、該腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法、および該製造方法によって製造されるモデル細胞もまた提供するものである。

**【0053】****【実施例】**

以下、本発明を実施例により、さらに具体的に説明するが本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

**1) プタ組織**





フナコシ株式会社より購入した。

【0054】

2) ブタTLR9遺伝子のクローニングと塩基配列決定

DDBJ/EMBL/GenBankにおいて公開されているヒトおよびマウスTLR9（それぞれAccession Number AB045180およびAF348140）遺伝子配列をもとに保存性の高い領域を探索しプライマーを作製した。そのプライマーを用いてブタ腸管パイエル板由来total RNAからRT-PCR法によりブタTLR9遺伝子断片を得た。得られた遺伝子断片はpGEM-T-Easy vectorにライゲーションしE.coli JM109コンピテントセルにトランスフォーメーションしサブクローニングした。DNA配列はDNA sequencer Model 4000L(Li-Cor, Lincoln, NE, USA)により決定した。塩基配列、アミノ酸配列解析にはGENETYX-SV/RC Ver.11.0.3.1を用いた。残りのブタTLR9遺伝子配列はブタTLR9遺伝子断片から設計したプライマーを用いてRACE法により得た。全TLR9遺伝子をPCR法により増幅しクローニングした。

【0055】


3) ブタTLR9特異的ポリクローナル抗体の作製

GENETYX-SV/RC Ver.11.0.3.1を用いた抗原決定基（エピトープ）解析とタンパク2次構造解析よりブタTLR9アミノ酸配列中より268から284番目の領域が高い抗原性を持つことを見出した。その領域のペプチド合成および合成ペプチドを抗原としたポリクローナル抗体作製をサワディテクノロジー株式会社に依頼した。

【0056】

4) ブタTLR9遺伝子を導入したトランスフェクタントの構築

ブタTLR9遺伝子を導入する宿主細胞としては、ヒトの細胞系で遺伝子導入のホスト細胞として広く利用されているHEK293T細胞（ヒト胎児腎細胞）を選択した。ヒトTLR9特異的プライマーを用いてHEK293T細胞がTLR9遺伝子を発現していないことを解析し、シグナルペプチドを除くブタTLR9遺伝子をライゲーションしたpCXN2.1-FLAG 遺伝子発現ベクター（H. Niwa et al, Gene, 108 (1991) 193-199）（大阪大学大学院医学研究科宮崎純一氏より分譲）をリポフェクション法によりHEK293T細胞にトランスフェクションした。抗生物質にはG418ネオマイシン（SIGMA）を用い、BECKMAN COULTER社のEPICSセルソーターシステムによりブタT



LR9発現細胞をセレクションした。

**【0057】**

## 5) RT-PCR法によるトランスフェクタントにおけるブタTLR9発現解析

トランスフェクタントよりTRIzol (インビトロジェン) を用いてtotal RNAを抽出し、ブタTLR9特異的プライマー (本発明で設計)、ヒトTLR9特異的プライマーおよびポジティブコントロールとしてヒトGAPDHプライマー (K. A. Zarembek, P. J. Godowski, J. Immunology, 168 (2002) 554-561) を用いてRT-PCR法によるTLR9 mRNA遺伝子発現解析を行った。

**【0058】**

## 6) フローサイトメトリー法および共焦点レーザー顕微鏡によるブタTLR9のトランスフェクタントにおける発現解析

細胞を1次抗体としてanti-FLAG mouse IgGモノクローナル抗体 (SIGMA) で4℃、1時間処理後、2次抗体としてanti-mouse IgG-PerCP 標識抗体で4℃、30分間染色した。核染色はPropidium iodideを4℃、10分間処理で行った。解析にはFACSCalibur™ (日本BECTON DICKINSON株式会社) を用いた。ブタTLR9ポリクローナル抗体による免疫染色は、上記のように1次抗体染色後、2次抗体として、anti-rabbit IgG-Alexa 488標識抗体で4℃、30分間染色し、核染後解析した。また、細胞をI型コラーゲンコートDisk (IWAKI) に播き1次抗体としてanti-FLAG mouse IgGビオチン標識抗体 (SIGMA) で4℃、1時間処理後、2次抗体としてstreptavidin-PE-Cy5抗体で4℃、30分間染色した。核染色にはPropidium iodide 4℃、10分間処理した。解析には共焦点レーザー顕微鏡 (BIO-RAD社) を用いた。

**【0059】**

## 7) トランスフェクタントを用いたCpG DNA取り込みの解析

CpG DNAは、既に報告のあるヒト免疫細胞を強く刺激する大腸菌ゲノムDNA由来CpG2006型 (5' -TCGTCGTTTGTGCTTTGTGCTT-3' (配列番号: 9)) とマウス免疫細胞を強く刺激するCpG1826型 (5' -TCCATGACGTTCC TGACGTT-3' (配列番号: 10)) (S. Pichyangkul et al, J. Immunological Methods, 247 (2001) 83-94) を用い、1Mの濃度のCpG DNAで、37℃にて1時間反応後、FACSCalibur™および共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析を行なった。

## 【0060】

## 8) ブタ各種組織におけるTLR9のreal-time PCR法による発現解析

ブタ各種組織（心臓、胸腺、肺臓、脾臓、肝臓、腎臓、骨格筋、十二指腸、空腸、回腸、回腸由来パイエル板、回腸由来腸管膜リンパ節）よりtotal RNAを抽出し、total RNA 1 $\mu$ gからoligo-d(T)<sub>18</sub>プライマーを用いてcDNAを合成後精製した。ブタTLR9特異的プライマーおよび精製cDNAからLightCycler (Roche)を用いて real-time quantitative PCRに供した。リアクションキットとしてLight Cycler-Fast Start DNA Master SYBR Green (Roche)を用いた。検量線から求めたブタTLR9遺伝子量とハウスキーピング遺伝子である $\beta$ アクチン遺伝子量との比から、ブタTLR9 mRNA量を算出した。結果は、脾臓中のTLR9発現量を1.000とした場合の各種組織に含まれるブタTLR9 mRNA量を数値化し比較した。

本発明で用いたプライマーの塩基配列情報を表1にまとめた。

## 【0061】

【表1】

配列番号	リバープライマー	配列番号	フォワードプライマー	配列番号	リバープライマー
12	GCTATTCGCGDGTGGAC	11	AGACTGGTTACCTGGCAAGA	24	TCTTGCCAGGTAAACCAGTCT
14	GGCAGAAAGTTCGGTTATAG	13	CAACCTGAAAGTCCTAGACG	26	AAGCTCGTTGTACACCCAGTCT
16	AGGCGCAGTGCAGAGGGTT	15	AGCTACAAACAGCCAGCCCTT	28	GAAGATGGTGTATGGGATTTC
18	AAGGGCTGGCTGTTGTAGCT	17	CTGCCAAAGCTCAACCTGT	30	CACAGCACTCTGAGCTTTGT
20	GTGGTAATTGAAGGACAGGTT	19	CTGCCCTTCCTACCCCTGTGA	32	AGGGCGGATGATCTTGATCT
21	GCAGTTCCTACTTGAGGTT GA				
22	ACGAAGTCAGAGTCGTGCAA				
23	AGGAAGAGCCAGTTGCAGTT				
配列番号	リバープライマー	配列番号	フォワードプライマー	配列番号	リバープライマー
25	TCTTGCCAGGTAAACCAGTCT	24	CTGAAAGTCCTAGACGTGAG	24	TCTTGCCAGGTAAACCAGTCT
27	AAGCTCGTTGTACACCCAGTCT	26	GGACCTCTGGTACTGCTTCCA	26	AAGCTCGTTGTACACCCAGTCT
29	GAAGATGGTGTATGGGATTTC	28	GAAGGTGAAGTCCGGAGTC	28	GAAGATGGTGTATGGGATTTC
31	CACAGCACTCTGAGCTTTGT	30	GTGGAACCTGTTTGGCATT	30	CACAGCACTCTGAGCTTTGT
33	AGGGCGGATGATCTTGATCT	32	TGGCATTGTCATGGACCTCTG	32	AGGGCGGATGATCTTGATCT

【0062】

【実施例1】 ブタTLR9遺伝子配列の決定と他種TLR9との相同性

本発明により決定したブタTLR9 cDNA塩基配列は3090塩基の構造遺伝子（ORF）を含む3145塩基（5'側に54塩基の非転写領域を含む）であった。ORFは1029残基のアミノ酸をコードしており、分子量は115.8kDaであった（図1および2）。多種TLR9に対するアライメントを図4および5に示した。ブタTLR9アミノ酸配列とヒト、マウス、ネコTLR9に対してそれぞれ82.0%、74.9%および86.6%の相同性が

認められた(表2)。

【0063】

【表2】

TLR9	塩基配列 <sup>a</sup>	アミノ酸配列 <sup>a</sup>
	相同性(%)	相同性(%)
ヒト	84.9	82.0
マウス	78.2	74.9
ネコ	86.6	86.6

aヒト、マウスおよびネコTLR9の配列情報は、DDBJより以下のaccession No. (それぞれAB045180、AF348140およびAY137581) で入手した。

【0064】

【実施例2】 プタTLR9トランスフェクタントの発現解析

コントロール細胞とトランスフェクタント由来total RNAを鋳型としたプタTLR9 mRNAとヒトTLR9 mRNAのRT-PCR発現解析によりトランスフェクタントにおけるプタTLR9 mRNAの強い発現が認められた。また、両者ともにヒトTLR9 mRNAの発現は認められなかった(図6)。

【0065】

フローサイトメトリーによる発現解析から、1次抗体として抗-FLAG抗体を用いた場合、コントロール細胞と比較してポジティブ側への大きなシフトがみられた(図7-a)。またプタTLR9抗体を用いた場合もポジティブ側へのシフトがみられた(図7-b)。レーザー顕微鏡による解析からも同様に発現が確認された(図8-a、c、b、d)。

【0066】

【実施例3】 CpG DNA取り込み解析

共焦点レーザー顕微鏡による解析ではCpG DNAの違いによる取り込みの顕著な差は判断できなかったが、フローサイトメトリーによるCpG DNAの取り込み解析

によりブタTLR9はマウス型CpG 1826よりもヒト型CpG2006を比較的多く取り込んでいることが明らかとなった(図7-c、8-e、f)。

#### 【0067】

〔実施例4〕 各種組織におけるブタTLR9 mRNAの発現解析


real-time PCR法による各種組織におけるブタTLR9 mRNAの発現解析の結果、ブタTLR9は、腸管リンパ系組織において、特にパイエル板と腸管膜リンパ節において強く発現していることが明らかとなった(図9)。

#### 【0068】

本実施例によりブタTLR9はマウスに比べヒトやネコTLR9と高い相同性を示すことが明らかとなった。また、real-time PCRによる発現解析から、これまでTLR9は脾臓において強い発現が認められるという報告がされていたが、経口的に病原細菌に曝される可能性が最も高い腸管粘膜系の内、腸管免疫の中心的な役割を果たすパイエル板や腸管膜リンパ節において、脾臓の約3倍以上のmRNA発現が認められた点は大変興味深い新知見である。また、本実施例はブタTLR9トランスフェクタントを構築することに成功し、本トランスフェクタントを用いたCpG DNAの取り込み解析から、ブタTLR9がマウス型に比べてヒト型CpG DNAに対する反応性が高かったことから、今後、このトランスフェクタントを用いた機能性乳酸菌DNAの認識性の解析が飛躍的に進み、ブタを実験動物としたヒトへのモデル系の計画的解析を通して、機能性食品開発の基礎研究が分子間の反応としてより詳細に検討できる。

#### 【0069】

TLR9により認識される細菌DNAはマクロファージや樹状細胞等を刺激し、サイトカイン等のシグナル分子の産生を促すことが知られている(M. Bauer et al, J. Immunol. 166 (2001) 5000-5007)。本実施例の成果は細菌DNAによる刺激とTLR9による認識およびシグナル伝達システムを応用したワクチンの開発につながるものであり(R. L. Modlin, Nature 408 (2000) 659-660)、感染を抑制するだけの低い免疫応答から、細菌を殺す有効性の高い応答へと切り換えることができるため、結核等の感染症の治療、さらには癌、アレルギー等への幅広い応用が期待できる。最近、腸管まで届く生きた抗原運搬役として乳酸菌が注目を浴びている



が、それに加えて乳酸菌由来DNAもまた免疫賦活化能があることが本発明者らの研究で明らかになったことから乳酸菌に対する期待が大いに高まっている。本発明でTLR9がパイエル板および腸管膜リンパ節で強い発現が認められたことから、TLR9が腸管免疫系において重要な役割を担っていることが強く示唆され、腸管に存在する乳酸菌や食餌性の乳業用乳酸菌のDNAがTLR9を刺激し、免疫を活性化する可能性が考えられる。それゆえ、乳酸菌DNAのTLR9を介した腸管免疫系を明らかにすることは、腸管常在乳酸菌や乳業用乳酸菌を用いたDNAワクチンの開発に向けた解決すべき課題である。

#### 【0070】

また、パイエル板および腸管膜リンパ節におけるTLR9の強い発現は、これら腸管免疫における自然免疫系の顕著な発達を意味しているかもしれない。近年、医学、免疫学の分野において腸管免疫系が極めて重要な領域として注目を集めるようになってきた。比較的新しい研究分野であるため基本的な免疫機構についての知見が少なく、その機構解明が大いに期待されている。

#### 【0071】

本発明で得られた知見は、今後腸管におけるTLR9を介したシグナル伝達経路についてその認識メカニズムを分子レベルで明らかにするための糸口となり、自然免疫という基本的な免疫システムがより発展的に解明されるための原動力ともなる。

#### 【0072】

##### 【発明の効果】

本発明においてTLRトランスフェクタントの利用法が提供された。TLRトランスフェクタントは、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として利用できる。また、TLRトランスフェクタントを利用することで、腸管免疫系を活性化する試料および微生物を同定でき、腸管免疫系を活性化する医薬組成物および食品組成物を製造できる。該試料、微生物、医薬組成物、および食品組成物は、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

#### 【0073】

##### 【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Meiji Dairies Corporation

<120> The use of toll-like receptor transfectant

<130> M1-X0301

<160> 34

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 3329

<212> DNA

<213> Sus scrofa

<220>

<221> CDS

<222> (55)..(3147)

<223>

<400> 1

agctgcggcc cggtctgcc gccagaccct ttggagaaga cccactccc tgtc atg 57  
Met  
1

ggc ccc cgc tgc acc ctg cac ccc ctt tct ctc ctg gtg cag gtg aca 105  
Gly Pro Arg Cys Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Val Thr



5 10 15  
gcg ctg gct gcg act ctg gcc cag ggc agg ctg cct gcc ttc ctg ccc 153  
Ala Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Arg Leu Pro Ala Phe Leu Pro  
20 25 30  
tgt gag ctc cag ccc cac ggc ctg gtg aac tgc aac tgg ctc ttc ctg 201  
Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe Leu  
35 40 45  
aag tcc gtg ccc cac ttc tcg gcg gca gcg ccc cgg gcc aac gtc acc 249  
Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Ala Asn Val Thr  
50 55 60 65  
agc ctc tcc tta ctc tcc aac cgc atc cac cac ttg cac gac tct gac 297  
Ser Leu Ser Leu Leu Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp  
70 75 80  
ttc gtc cac ctg tcc agc cta cga act ctc aac ctc aag tgg aac tgc 345  
Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Thr Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys  
85 90 95  
ccg ccg gct ggc ctc agc ccc atg cac ttc ccc tgc cac atg acc atc 393  
Pro Pro Ala Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile  
100 105 110  
gag ccc aac acc ttc ctg gcc gtg ccc acc ctg gag gag ctg aac ctg 441  
Glu Pro Asn Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu  
115 120 125

agc tac aac agc atc acg acc gtg cct gcc ctg ccc gac tcc ctc gtg 489  
Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Asp Ser Leu Val  
130 135 140 145

tcc ctg tcg ctg agc cgc acc aac atc ctg gtg cta gac ccc acc cac 537  
Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Thr His  
150 155 160

ctc act ggc cta cat gcc ctg cgc tac ctg tac atg gat ggc aac tgc 585  
Leu Thr Gly Leu His Ala Leu Arg Tyr Leu Tyr Met Asp Gly Asn Cys  
165 170 175

tac tac aag aac ccc tgc cag ggg gcg ctg gag gtg gtg ccg ggt gcc 633  
Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Gln Gly Ala Leu Glu Val Val Pro Gly Ala  
180 185 190

ctc ctc ggc ctg ggc aac ctc aca cat ctc tca ctc aag tac aac aat 681  
Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn  
195 200 205

ctc acg gag gtg ccc cgc agc ctg ccc ccc agc ctg gag acc ctg ctg 729  
Leu Thr Glu Val Pro Arg Ser Leu Pro Pro Ser Leu Glu Thr Leu Leu  
210 215 220 225

ttg tcc tac aac cac att gtc acc ctg acg cct gag gac ctg gcc aat 777  
Leu Ser Tyr Asn His Ile Val Thr Leu Thr Pro Glu Asp Leu Ala Asn  
230 235 240

ctg act gcc ctg cgc gtg ctt gat gtg ggg ggg aac tgc cgc cgc tgt 825  
 Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys  
 245 250 255

gac cat gcc cgc aac ccc tgc agg gag tgc cca aag gac cac ccc aag 873  
 Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Arg Glu Cys Pro Lys Asp His Pro Lys  
 260 265 270

ctg cac tct gac acc ttc agc cac ctg agc cgc ctc gaa ggc ctg gtg 921  
 Leu His Ser Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu Val  
 275 280 285

ttg aaa gac agt tct ctc tac aac ctg gac gcc agg tgg ttc cga ggc 969  
 Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asp Ala Arg Trp Phe Arg Gly  
 290 295 300 305

ctg gac agg ctc caa gtg ctg gac ctg agt gag aac ttc ctc tac gac 1017  
 Leu Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Asp  
 310 315 320

tgc atc acc aag acc acg gcc ttc cag ggc ctg gcc cga ctg cgc aag 1065  
 Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Arg Leu Arg Lys  
 325 330 335

ctc aac ctg tcc ttc aat tac cac aag aag gtg tcc ttt gcc cac ctg 1113  
 Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala His Leu  
 340 345 350

cac ctg gca ccc tcc ttt ggg cac ctc cgg tcc ctg aag gag ctg gac 1161

His Leu Ala Pro Ser Phe Gly His Leu Arg Ser Leu Lys Glu Leu Asp  
355 360 365

atg cat ggc atc ttc ttc cgc tcg ctc agt gag acc acg ctc caa cct 1209  
Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Gln Pro  
370 375 380 385

ctg gtc caa ctg cct atg ctc cag acc ctg cgc ctg cag atg aac ttc 1257  
Leu Val Gln Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn Phe  
390 395 400

att aac cag gcc cag ctc agc atc ttt ggg gcc ttc cct ggc ctg ctg 1305  
Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu Leu  
405 410 415

tac gtg gac cta tcg gac aac cgc atc agc gga gct gca agg cca gtg 1353  
Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ala Arg Pro Val  
420 425 430

gcc att act agg gag gtg gat ggt agg gag agg gtc tgg ctg cct tcc 1401  
Ala Ile Thr Arg Glu Val Asp Gly Arg Glu Arg Val Trp Leu Pro Ser  
435 440 445

agg aac ctc gct cca cgt cca ctg gac act ctc cgc tca gag gac ttc 1449  
Arg Asn Leu Ala Pro Arg Pro Leu Asp Thr Leu Arg Ser Glu Asp Phe  
450 455 460 465

atg cca aac tgc aag gcc ttc agc ttc acc ttg gac ctg tct cgg aac 1497  
Met Pro Asn Cys Lys Ala Phe Ser Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn

470 475 480  
aac ctg gtg aca atc cag tcg gag atg ttt gct cgc ctc tca cgc ctc 1545  
Asn Leu Val Thr Ile Gln Ser Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg Leu  
485 490 495  
gag tgc ctg cgt ctg agc cac aac agc atc tcc cag gcg gtc aat ggc 1593  
Glu Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly  
500 505 510  
tct cag ttt gtg ccg ctg acc agc ctg cgg gtg ctg gac ctg tcc cac 1641  
Ser Gln Phe Val Pro Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser His  
515 520 525  
aac aag ctg gac ctg tat cac ggg cgc tcg ttc acg gag ctg ccg cgc 1689  
Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg  
530 535 540 545  
ctg gaa gca ctg gac ctc agc tac aac agc cag ccc ttt acc atg cag 1737  
Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Thr Met Gln  
550 555 560  
ggc gtg ggc cac aac ctc agc ttc gtg gcc cag ctg ccc gcc ctg cgc 1785  
Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu Arg  
565 570 575  
tac ctc agc ctg gcg cac aat gac atc cat agc cga gtg tcc cag cag 1833  
Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln Gln  
580 585 590

ctc tgt agc gcc tca ctg tgc gcc ctg gac ttt agc ggc aac gat ctg 1881  
Leu Cys Ser Ala Ser Leu Cys Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Asp Leu  
595 600 605

agc cgg atg tgg gct gag gga gac ctc tat ctc cgc ttc ttc caa ggc 1929  
Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Arg Phe Phe Gln Gly  
610 615 620 625

cta aga agc cta gtc tgg ctg gac ctg tcc cag aac cac ctg cac acc 1977  
Leu Arg Ser Leu Val Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn His Leu His Thr  
630 635 640

ctc ctg cca cgt gcc ctg gac aac ctc ccc aaa agc ctg aag cat ctg 2025  
Leu Leu Pro Arg Ala Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys His Leu  
645 650 655

cat ctc cgt gac aat aac ctg gcc ttc ttc aac tgg agc agc ctg acc 2073  
His Leu Arg Asp Asn Asn Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu Thr  
660 665 670

ctc ctg ccc aag ctg gaa acc ctg gac ttg gct gga aac cag ctg aag 2121  
Leu Leu Pro Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys  
675 680 685

gcc cta agc aat ggc agc ctg cca tct ggc acc cag ctg cgg agg ctg 2169  
Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Ser Gly Thr Gln Leu Arg Arg Leu  
690 695 700 705

gac ctc agt ggc aac agc atc ggc ttt gtg aac cct ggc ttc ttt gcc 2217  
Asp Leu Ser Gly Asn Ser Ile Gly Phe Val Asn Pro Gly Phe Phe Ala  
710 715 720

ctg gcc aag cag tta gaa gag ctc aac ctc agc gcc aat gcc ctc aag 2265  
Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys  
725 730 735

aca gtg gag ccc tcc tgg ttt ggc tcg atg gtg ggc aac ctg aaa gtc 2313  
Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Met Val Gly Asn Leu Lys Val  
740 745 750

cta gac gtg agc gcc aac cct ctg cac tgc gcc tgt ggg gcg acc ttc 2361  
Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Thr Phe  
755 760 765

gtg ggc ttc ctg ctg gag gta cag gct gcc gtg cct ggg ctg ccc agc 2409  
Val Gly Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Ser  
770 775 780 785

cgc gtc aag tgt ggc agt ccg ggg cag ctc cag ggc cat agc atc ttt 2457  
Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly His Ser Ile Phe  
790 795 800

gcg caa gac ctg cgc ctc tgc ctg gat gag acc ctc tcg tgg aac tgt 2505  
Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Thr Leu Ser Trp Asn Cys  
805 810 815

ttt ggc atc tcg ctg ctg gcc atg gcc ctg ggc ctg gtt gtg ccc atg 2553

Phe Gly Ile Ser Leu Leu Ala Met Ala Leu Gly Leu Val Val Pro Met

820

825

830

ctg cac cac ctc tgc ggc tgg gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc 2601

Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys

835

840

845

ctg gcc tgg ctg ccc cac cga ggg cag cgg cgg ggc gca gac gcc ctg 2649

Leu Ala Trp Leu Pro His Arg Gly Gln Arg Arg Gly Ala Asp Ala Leu

850

855

860

865

ttc tat gat gcc ttc gtg gtc ttt gac aaa gct cag agt gct gtg gcc 2697

Phe Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala

870

875

880

gac tgg gtg tac aac gag ctg cgg gtg cag ctg gag gag cgc cgt ggc 2745

Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Gln Leu Glu Glu Arg Arg Gly

885

890

895

cgc cgc gca ctg cgc ctg tgc ctg gag gag cga gac tgg tta cct ggc 2793

Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly

900

905

910

aag acg ctc ttc gag aac ctg tgg gcc tca gtc tac agc agc cgc aag 2841

Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg Lys

915

920

925

acc ctg ttt gtg ctg gcc cac acg gac cgt gtc agc ggc ctc ttg cgt 2889

Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg



930 935 940 945  
gcc agt ttc ctg ctg gcc cag cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac 2937  
Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp  
950 955 960  
gtt gta gtg ctg gtg atc ctg cgc ccc gat gcc tac cgc tcc cgc tac 2985  
Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala Tyr Arg Ser Arg Tyr  
965 970 975  
gtg cgg ctg cgc cag cgc ctc tgc cgc cag agt gtc ctc ctc tgg ccc 3033  
Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro  
980 985 990  
cac cag ccc cgt ggg cag ggc agc ttc tgg gcc cag ctg ggc aca gcc 3081  
His Gln Pro Arg Gly Gln Gly Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr Ala  
995 1000 1005  
ctg acc agg gac aac cgc cac ttc tat aac cgg aac ttc tgc cgg 3126  
Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys Arg  
1010 1015 1020  
ggc ccc acg aca gcc gaa tag cactgagtga cagcccagtt gccccagccc 3177  
Gly Pro Thr Thr Ala Glu  
1025 1030  
ccctggattt gcctctctgc ctgggtgccc caacctgctt tgctcagcca caccactgct 3237  
ctgctccctg ttccccaccc cccccccag cctggcatgt aacatgtgcc caataaatgc 3297



taccggaggc caagcaaaaa aaaaaaaaaa aa

3329

<210> 2

<211> 1030

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<400> 2

Met Gly Pro Arg Cys Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Val

1 5 10 15

Thr Ala Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Arg Leu Pro Ala Phe Leu

20 25 30

Pro Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe

35 40 45

Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Ala Asn Val

50 55 60

Thr Ser Leu Ser Leu Leu Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser

65 70 75 80

Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Thr Leu Asn Leu Lys Trp Asn

85 90 95

Cys Pro Pro Ala Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr

Ile Glu Pro Asn Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn  
100 105 110  
115 120 125  
Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Asp Ser Leu  
130 135 140  
Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Thr  
145 150 155 160  
His Leu Thr Gly Leu His Ala Leu Arg Tyr Leu Tyr Met Asp Gly Asn  
165 170 175  
Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Gln Gly Ala Leu Glu Val Val Pro Gly  
180 185 190  
Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn  
195 200 205  
Asn Leu Thr Glu Val Pro Arg Ser Leu Pro Pro Ser Leu Glu Thr Leu  
210 215 220  
Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Val Thr Leu Thr Pro Glu Asp Leu Ala  
225 230 235 240  
Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg  
245 250 255

Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Arg Glu Cys Pro Lys Asp His Pro  
260 265 270

Lys Leu His Ser Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu  
275 280 285

Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asp Ala Arg Trp Phe Arg  
290 295 300

Gly Leu Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr  
305 310 315 320

Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Arg Leu Arg  
325 330 335

Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala His  
340 345 350

Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly His Leu Arg Ser Leu Lys Glu Leu  
355 360 365

Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Gln  
370 375 380

Pro Leu Val Gln Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn  
385 390 395 400

Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu  
405 410 415

Leu Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ala Arg Pro  
420 425 430

Val Ala Ile Thr Arg Glu Val Asp Gly Arg Glu Arg Val Trp Leu Pro  
435 440 445

Ser Arg Asn Leu Ala Pro Arg Pro Leu Asp Thr Leu Arg Ser Glu Asp  
450 455 460

Phe Met Pro Asn Cys Lys Ala Phe Ser Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg  
465 470 475 480

Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Ser Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg  
485 490 495

Leu Glu Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn  
500 505 510

Gly Ser Gln Phe Val Pro Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser  
515 520 525

His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro  
530 535 540

Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Thr Met  
545 550 555 560

Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu

565 570 575  
Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln  
580 585 590  
Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Cys Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Asp  
595 600 605  
Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Arg Phe Phe Gln  
610 615 620  
Gly Leu Arg Ser Leu Val Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn His Leu His  
625 630 635 640  
Thr Leu Leu Pro Arg Ala Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys His  
645 650 655  
Leu His Leu Arg Asp Asn Asn Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu  
660 665 670  
Thr Leu Leu Pro Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu  
675 680 685  
Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Ser Gly Thr Gln Leu Arg Arg  
690 695 700  
Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ser Ile Gly Phe Val Asn Pro Gly Phe Phe  
705 710 715 720

Ala Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu  
725 730 735

Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Met Val Gly Asn Leu Lys  
740 745 750

Val Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Thr  
755 760 765

Phe Val Gly Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro  
770 775 780

Ser Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly His Ser Ile  
785 790 795 800

Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Thr Leu Ser Trp Asn  
805 810 815

Cys Phe Gly Ile Ser Leu Leu Ala Met Ala Leu Gly Leu Val Val Pro  
820 825 830

Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu  
835 840 845

Cys Leu Ala Trp Leu Pro His Arg Gly Gln Arg Arg Gly Ala Asp Ala  
850 855 860

Leu Phe Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val  
865 870 875 880

Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Gln Leu Glu Glu Arg Arg  
885 890 895

Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro  
900 905 910

Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg  
915 920 925

Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu  
930 935 940

Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys  
945 950 955 960

Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala Tyr Arg Ser Arg  
965 970 975

Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp  
980 985 990

Pro His Gln Pro Arg Gly Gln Gly Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr  
995 1000 1005

Ala Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys  
1010 1015 1020

Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu



1025

1030

<210> 3  
<211> 3868  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (635)..(3733)  
<223>

<400> 3  
ggaggtcttg tttccggaag atgttgcaag gctgtggtga aggcaggtgc agcctagcct 60  
cctgtcgaag ctacaccctg gccctccacg catgaggccc tgcagaactc tggagatggt 120  
gcctacaagg gcagaaaagg acaagtcggc agccgctgtc ctgagggcac cagctgtggt 180  
gcaggagcca agacctgagg gtggaagtgt cctcttagaa tggggagtgc ccagcaaggt 240  
gtaccgccta ctggtgctat ccagaattcc catctctccc tgctctctgc ctgagctctg 300  
ggccttagct cctccctggg cttggtagag gacaggtgtg aggccctcat gggatgtagg 360  
ctgtctgaga ggggagtgga aagaggaagg ggtgaaggag ctgtctgcca ttgactatg 420  
caaatggcct ttgactcatg ggaccctgtc ctctcactg ggggcagggt ggagtggagg 480

gggagctact aggcctggtat aaaaatctta cttcctctat tctctgagcc gctgctgccc 540

ctgtgggaag ggacctcgag tgtgaagcat ccttcctgt agctgctgtc cagtctgccc 600

gccagaccct ctggagaagc ccctgcccc cagc atg ggt ttc tgc cgc agc gcc 655

Met Gly Phe Cys Arg Ser Ala

1 5

ctg cac ccg ctg tct ctc ctg gtg cag gcc atc atg ctg gcc atg acc 703

Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ile Met Leu Ala Met Thr

10 15 20

ctg gcc ctg ggt acc ttg cct gcc ttc cta ccc tgt gag ctc cag ccc 751

Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Gln Pro

25 30 35

cac ggc ctg gtg aac tgc aac tgg ctg ttc ctg aag tct gtg ccc cac 799

His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro His

40 45 50 55

ttc tcc atg gca gca ccc cgt ggc aat gtc acc agc ctt tcc ttg tcc 847

Phe Ser Met Ala Ala Pro Arg Gly Asn Val Thr Ser Leu Ser Leu Ser

60 65 70

tcc aac cgc atc cac cac ctc cat gat tct gac ttt gcc cac ctg ccc 895

Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp Phe Ala His Leu Pro

75 80 85

agc ctg cgg cat ctc aac ctc aag tgg aac tgc ccg ccg gtt ggc ctc 943  
Ser Leu Arg His Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Val Gly Leu  
90 95 100

agc ccc atg cac ttc ccc tgc cac atg acc atc gag ccc agc acc ttc 991  
Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile Glu Pro Ser Thr Phe  
105 110 115

ttg gct gtg ccc acc ctg gaa gag cta aac ctg agc tac aac aac atc 1039  
Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Asn Ile  
120 125 130 135

atg act gtg cct gcg ctg ccc aaa tcc ctc ata tcc ctg tcc ctc agc 1087  
Met Thr Val Pro Ala Leu Pro Lys Ser Leu Ile Ser Leu Ser Leu Ser  
140 145 150

cat acc aac atc ctg atg cta gac tct gcc agc ctc gcc ggc ctg cat 1135  
His Thr Asn Ile Leu Met Leu Asp Ser Ala Ser Leu Ala Gly Leu His  
155 160 165

gcc ctg cgc ttc cta ttc atg gac ggc aac tgt tat tac aag aac ccc 1183  
Ala Leu Arg Phe Leu Phe Met Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro  
170 175 180

tgc agg cag gca ctg gag gtg gcc ccg ggt gcc ctc ctt ggc ctg ggc 1231  
Cys Arg Gln Ala Leu Glu Val Ala Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly  
185 190 195

aac ctc acc cac ctg tca ctc aag tac aac aac ctc act gtg gtg ccc 1279

Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Val Val Pro  
 200 205 210 215

cgc aac ctg cct tcc agc ctg gag tat ctg ctg ttg tcc tac aac cgc 1327  
 Arg Asn Leu Pro Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Arg  
 220 225 230

atc gtc aaa ctg gcg cct gag gac ctg gcc aat ctg acc gcc ctg cgt 1375  
 Ile Val Lys Leu Ala Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg  
 235 240 245

gtg ctc gat gtg ggc gga aat tgc cgc cgc tgc gac cac gct ccc aac 1423  
 Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Pro Asn  
 250 255 260

ccc tgc atg gag tgc cct cgt cac ttc ccc cag cta cat ccc gat acc 1471  
 Pro Cys Met Glu Cys Pro Arg His Phe Pro Gln Leu His Pro Asp Thr  
 265 270 275

ttc agc cac ctg agc cgt ctt gaa ggc ctg gtg ttg aag gac agt tct 1519  
 Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser  
 280 285 290 295

ctc tcc tgg ctg aat gcc agt tgg ttc cgt ggg ctg gga aac ctc cga 1567  
 Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Trp Phe Arg Gly Leu Gly Asn Leu Arg  
 300 305 310

gtg ctg gac ctg agt gag aac ttc ctc tac aaa tgc atc act aaa acc 1615  
 Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Lys Cys Ile Thr Lys Thr

315 320 325  
aag gcc ttc cag ggc cta aca cag ctg cgc aag ctt aac ctg tcc ttc 1663  
Lys Ala Phe Gln Gly Leu Thr Gln Leu Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe  
330 335 340  
aat tac caa aag agg gtg tcc ttt gcc cac ctg tct ctg gcc cct tcc 1711  
Asn Tyr Gln Lys Arg Val Ser Phe Ala His Leu Ser Leu Ala Pro Ser  
345 350 355  
ttc ggg agc ctg gtc gcc ctg aag gag ctg gac atg cac ggc atc ttc 1759  
Phe Gly Ser Leu Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Met His Gly Ile Phe  
360 365 370 375  
ttc cgc tca ctc gat gag acc acg ctc cgg cca ctg gcc cgc ctg ccc 1807  
Phe Arg Ser Leu Asp Glu Thr Thr Leu Arg Pro Leu Ala Arg Leu Pro  
380 385 390  
atg ctc cag act ctg cgt ctg cag atg aac ttc atc aac cag gcc cag 1855  
Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln  
395 400 405  
ctc ggc atc ttc agg gcc ttc cct ggc ctg cgc tac gtg gac ctg tcg 1903  
Leu Gly Ile Phe Arg Ala Phe Pro Gly Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser  
410 415 420  
gac aac cgc atc agc gga gct tcg gag ctg aca gcc acc atg ggg gag 1951  
Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ser Glu Leu Thr Ala Thr Met Gly Glu  
425 430 435

gca gat gga ggg gag aag gtc tgg ctg cag cct ggg gac ctt gct ccg 1999  
Ala Asp Gly Gly Glu Lys Val Trp Leu Gln Pro Gly Asp Leu Ala Pro  
440 445 450 455

gcc cca gtg gac act ccc agc tct gaa gac ttc agg ccc aac tgc agc 2047  
Ala Pro Val Asp Thr Pro Ser Ser Glu Asp Phe Arg Pro Asn Cys Ser  
460 465 470

acc ctc aac ttc acc ttg gat ctg tca cgg aac aac ctg gtg acc gtg 2095  
Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Val  
475 480 485

cag ccg gag atg ttt gcc cag ctc tcg cac ctg cag tgc ctg cgc ctg 2143  
Gln Pro Glu Met Phe Ala Gln Leu Ser His Leu Gln Cys Leu Arg Leu  
490 495 500

agc cac aac tgc atc tcg cag gca gtc aat ggc tcc cag ttc ctg ccg 2191  
Ser His Asn Cys Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro  
505 510 515

ctg acc ggt ctg cag gtg cta gac ctg tcc cac aat aag ctg gac ctc 2239  
Leu Thr Gly Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu  
520 525 530 535

tac cac gag cac tca ttc acg gag cta cca cga ctg gag gcc ctg gac 2287  
Tyr His Glu His Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp  
540 545 550

ctc agc tac aac agc cag ccc ttt ggc atg cag ggc gtg ggc cac aac 2335  
Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Gly Met Gln Gly Val Gly His Asn  
555 560 565

ttc agc ttc gtg gct cac ctg cgc acc ctg cgc cac ctc agc ctg gcc 2383  
Phe Ser Phe Val Ala His Leu Arg Thr Leu Arg His Leu Ser Leu Ala  
570 575 580

cac aac aac atc cac agc caa gtg tcc cag cag ctc tgc agt acg tcg 2431  
His Asn Asn Ile His Ser Gln Val Ser Gln Gln Leu Cys Ser Thr Ser  
585 590 595

ctg cgg gcc ctg gac ttc agc ggc aat gca ctg ggc cat atg tgg gcc 2479  
Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Ala Leu Gly His Met Trp Ala  
600 605 610 615

gag gga gac ctc tat ctg cac ttc ttc caa ggc ctg agc ggt ttg atc 2527  
Glu Gly Asp Leu Tyr Leu His Phe Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Ile  
620 625 630

tgg ctg gac ttg tcc cag aac cgc ctg cac acc ctc ctg ccc caa acc 2575  
Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu His Thr Leu Leu Pro Gln Thr  
635 640 645

ctg cgc aac ctc ccc aag agc cta cag gtg ctg cgt ctc cgt gac aat 2623  
Leu Arg Asn Leu Pro Lys Ser Leu Gln Val Leu Arg Leu Arg Asp Asn  
650 655 660

tac ctg gcc ttc ttt aag tgg tgg agc ctc cac ttc ctg ccc aaa ctg 2671

Tyr Leu Ala Phe Phe Lys Trp Trp Ser Leu His Phe Leu Pro Lys Leu  
 665 670 675

gaa gtc ctc gac ctg gca gga aac cag ctg aag gcc ctg acc aat ggc 2719  
 Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly  
 680 685 690 695

agc ctg cct gct ggc acc cgg ctc cgg agg ctg gat gtc agc tgc aac 2767  
 Ser Leu Pro Ala Gly Thr Arg Leu Arg Arg Leu Asp Val Ser Cys Asn  
 700 705 710

agc atc agc ttc gtg gcc ccc ggc ttc ttt tcc aag gcc aag gag ctg 2815  
 Ser Ile Ser Phe Val Ala Pro Gly Phe Phe Ser Lys Ala Lys Glu Leu  
 715 720 725

cga gag ctc aac ctt agc gcc aac gcc ctc aag aca gtg gac cac tcc 2863  
 Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys Thr Val Asp His Ser  
 730 735 740

tgg ttt ggg ccc ctg gcg agt gcc ctg caa ata cta gat gta agc gcc 2911  
 Trp Phe Gly Pro Leu Ala Ser Ala Leu Gln Ile Leu Asp Val Ser Ala  
 745 750 755

aac cct ctg cac tgc gcc tgt ggg gcg gcc ttt atg gac ttc ctg ctg 2959  
 Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Met Asp Phe Leu Leu  
 760 765 770 775

gag gtg cag gct gcc gtg ccc ggt ctg ccc agc cgg gtg aag tgt ggc 3007  
 Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Ser Arg Val Lys Cys Gly



780	785	790	
agt ccg ggc cag ctc cag ggc ctc agc atc ttt gca cag gac ctg cgc 3055			
Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Leu Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg			
795	800	805	
ctc tgc ctg gat gag gcc ctc tcc tgg gac tgt ttc gcc ctc tcg ctg 3103			
Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp Asp Cys Phe Ala Leu Ser Leu			
810	815	820	
ctg gct gtg gct ctg ggc ctg ggt gtg ccc atg ctg cat cac ctc tgt 3151			
Leu Ala Val Ala Leu Gly Leu Gly Val Pro Met Leu His His Leu Cys			
825	830	835	
ggc tgg gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc ctg gcc tgg ctt ccc 3199			
Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro			
840	845	850	855
tgg cgg ggg cgg caa agt ggg cga gat gag gat gcc ctg ccc tac gat 3247			
Trp Arg Gly Arg Gln Ser Gly Arg Asp Glu Asp Ala Leu Pro Tyr Asp			
860	865	870	
gcc ttc gtg gtc ttc gac aaa acg cag agc gca gtg gca gac tgg gtg 3295			
Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Thr Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val			
875	880	885	
tac aac gag ctt cgg ggg cag ctg gag gag tgc cgt ggg cgc tgg gca 3343			
Tyr Asn Glu Leu Arg Gly Gln Leu Glu Glu Cys Arg Gly Arg Trp Ala			
890	895	900	

ctc cgc ctg tgc ctg gag gaa cgc gac tgg ctg cct ggc aaa acc ctc 3391  
Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu  
905 910 915

ttt gag aac ctg tgg gcc tcg gtc tat ggc agc cgc aag acg ctg ttt 3439  
Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe  
920 925 930 935

gtg ctg gcc cac acg gac cgg gtc agt ggt ctc ttg cgc gcc agc ttc 3487  
Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe  
940 945 950

ctg ctg gcc cag cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac gtc gtg gtg 3535  
Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val  
955 960 965

ctg gtg atc ctg agc cct gac ggc cgc cgc tcc cgc tac gtg cgg ctg 3583  
Leu Val Ile Leu Ser Pro Asp Gly Arg Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu  
970 975 980

cgc cag cgc ctc tgc cgc cag agt gtc ctc ctc tgg ccc cac cag ccc 3631  
Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro His Gln Pro  
985 990 995

agt ggt cag cgc agc ttc tgg gcc cag ctg ggc atg gcc ctg acc 3676  
Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Met Ala Leu Thr  
1000 1005 1010

agg gac aac cac cac ttc tat aac cgg aac ttc tgc cag gga ccc 3721  
 Arg Asp Asn His His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys Gln Gly Pro  
 1015 1020 1025

acg gcc gaa tag ccgtgagccg gaatcctgca cgggtgccacc tccacactca 3773  
 Thr Ala Glu  
 1030

cctcacctct gcctgcctgg tctgaccctc ccctgctcgc ctccctcacc ccacacctga 3833

cacagagcag gcactcaata aatgctaccg aaggc 3868

<210> 4

<211> 1032

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Gly Phe Cys Arg Ser Ala Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln  
 1 5 10 15

Ala Ile Met Leu Ala Met Thr Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe  
 20 25 30

Leu Pro Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu  
 35 40 45

Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Met Ala Ala Pro Arg Gly Asn

50

55

60

Val Thr Ser Leu Ser Leu Ser Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp

65

70

75

80

Ser Asp Phe Ala His Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asn Leu Lys Trp

85

90

95

Asn Cys Pro Pro Val Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met

100

105

110

Thr Ile Glu Pro Ser Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu

115

120

125

Asn Leu Ser Tyr Asn Asn Ile Met Thr Val Pro Ala Leu Pro Lys Ser

130

135

140

Leu Ile Ser Leu Ser Leu Ser His Thr Asn Ile Leu Met Leu Asp Ser

145

150

155

160

Ala Ser Leu Ala Gly Leu His Ala Leu Arg Phe Leu Phe Met Asp Gly

165

170

175

Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Arg Gln Ala Leu Glu Val Ala Pro

180

185

190

Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr

195

200

205

Asn Asn Leu Thr Val Val Pro Arg Asn Leu Pro Ser Ser Leu Glu Tyr  
210 215 220

Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Arg Ile Val Lys Leu Ala Pro Glu Asp Leu  
225 230 235 240

Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg  
245 250 255

Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys Met Glu Cys Pro Arg His Phe  
260 265 270

Pro Gln Leu His Pro Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly  
275 280 285

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Trp Phe  
290 295 300

Arg Gly Leu Gly Asn Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Ile Thr Lys Thr Lys Ala Phe Gln Gly Leu Thr Gln Leu  
325 330 335

Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr Gln Lys Arg Val Ser Phe Ala  
340 345 350

His Leu Ser Leu Ala Pro Ser Phe Gly Ser Leu Val Ala Leu Lys Glu  
355 360 365

Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Asp Glu Thr Thr Leu  
370 375 380

Arg Pro Leu Ala Arg Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met  
385 390 395 400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Gly Ile Phe Arg Ala Phe Pro Gly  
405 410 415

Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ser Glu  
420 425 430

Leu Thr Ala Thr Met Gly Glu Ala Asp Gly Gly Glu Lys Val Trp Leu  
435 440 445

Gln Pro Gly Asp Leu Ala Pro Ala Pro Val Asp Thr Pro Ser Ser Glu  
450 455 460

Asp Phe Arg Pro Asn Cys Ser Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser  
465 470 475 480

Arg Asn Asn Leu Val Thr Val Gln Pro Glu Met Phe Ala Gln Leu Ser  
485 490 495

His Leu Gln Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Cys Ile Ser Gln Ala Val  
500 505 510

Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu Thr Gly Leu Gln Val Leu Asp Leu

515

520

525

Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Glu His Ser Phe Thr Glu Leu

530

535

540

Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Gly

545

550

555

560

Met Gln Gly Val Gly His Asn Phe Ser Phe Val Ala His Leu Arg Thr

565

570

575

Leu Arg His Leu Ser Leu Ala His Asn Asn Ile His Ser Gln Val Ser

580

585

590

Gln Gln Leu Cys Ser Thr Ser Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn

595

600

605

Ala Leu Gly His Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu His Phe Phe

610

615

620

Gln Gly Leu Ser Gly Leu Ile Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu

625

630

635

640

His Thr Leu Leu Pro Gln Thr Leu Arg Asn Leu Pro Lys Ser Leu Gln

645

650

655

Val Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ala Phe Phe Lys Trp Trp Ser

660

665

670

Leu His Phe Leu Pro Lys Leu Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln  
675 680 685

Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Leu Pro Ala Gly Thr Arg Leu Arg  
690 695 700

Arg Leu Asp Val Ser Cys Asn Ser Ile Ser Phe Val Ala Pro Gly Phe  
705 710 715 720

Phe Ser Lys Ala Lys Glu Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala  
725 730 735

Leu Lys Thr Val Asp His Ser Trp Phe Gly Pro Leu Ala Ser Ala Leu  
740 745 750

Gln Ile Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala  
755 760 765

Ala Phe Met Asp Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu  
770 775 780

Pro Ser Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Leu Ser  
785 790 795 800

Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp  
805 810 815

Asp Cys Phe Ala Leu Ser Leu Leu Ala Val Ala Leu Gly Leu Gly Val  
820 825 830



Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His  
835 840 845

Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Trp Arg Gly Arg Gln Ser Gly Arg Asp  
850 855 860

Glu Asp Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Thr Gln  
865 870 875 880

Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Gly Gln Leu Glu  
885 890 895

Glu Cys Arg Gly Arg Trp Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp  
900 905 910

Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr  
915 920 925

Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser  
930 935 940

Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu  
945 950 955 960

Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Ser Pro Asp Gly Arg  
965 970 975

Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val

980

985

990

Leu Leu Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln

995

1000

1005

Leu Gly Met Ala Leu Thr Arg Asp Asn His His Phe Tyr Asn Arg

1010

1015

1020

Asn Phe Cys Gln Gly Pro Thr Ala Glu

1025

1030

<210> 5

<211> 3340

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (86)..(3184)

<223>

<400> 5

tctctgagag accctggtgt ggaacatcat tctctgccgc ccagtttgtc agagggagcc 60

tcgggagaat cctccatctc ccaac atg gtt ctc cgt cga agg act ctg cac 112

Met Val Leu Arg Arg Arg Thr Leu His

1

5

ccc ttg tcc ctc ctg gta cag gct gca gtg ctg gct gag act ctg gcc 160  
Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ala Val Leu Ala Glu Thr Leu Ala  
10 15 20 25

ctg ggt acc ctg cct gcc ttc cta ccc tgt gag ctg aag cct cat gcc 208  
Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Lys Pro His Gly  
30 35 40

ctg gtg gac tgc aat tgg ctg ttc ctg aag tct gta ccc cgt ttc tct 256  
Leu Val Asp Cys Asn Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro Arg Phe Ser  
45 50 55

gcg gca gca tcc tgc tcc aac atc acc cgc ctc tcc ttg atc tcc aac 304  
Ala Ala Ala Ser Cys Ser Asn Ile Thr Arg Leu Ser Leu Ile Ser Asn  
60 65 70

cgt atc cac cac ctg cac aac tcc gac ttc gtc cac ctg tcc aac ctg 352  
Arg Ile His His Leu His Asn Ser Asp Phe Val His Leu Ser Asn Leu  
75 80 85

cgg cag ctg aac ctc aag tgg aac tgt cca ccc act ggc ctt agc ccc 400  
Arg Gln Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Thr Gly Leu Ser Pro  
90 95 100 105

ctg cac ttc tct tgc cac atg acc att gag ccc aga acc ttc ctg gct 448  
Leu His Phe Ser Cys His Met Thr Ile Glu Pro Arg Thr Phe Leu Ala  
110 115 120

atg cgt aca ctg gag gag ctg aac ctg agc tat aat ggt atc acc act 496

Met Arg Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Thr  
125 130 135

gtg ccc cga ctg ccc agc tcc ctg gtg aat ctg agc ctg agc cac acc 544  
Val Pro Arg Leu Pro Ser Ser Leu Val Asn Leu Ser Leu Ser His Thr  
140 145 150

aac atc ctg gtt cta gat gct aac agc ctc gcc ggc cta tac agc ctg 592  
Asn Ile Leu Val Leu Asp Ala Asn Ser Leu Ala Gly Leu Tyr Ser Leu  
155 160 165

cgc gtt ctc ttc atg gac ggg aac tgc tac tac aag aac ccc tgc aca 640  
Arg Val Leu Phe Met Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Thr  
170 175 180 185

gga gcg gtg aag gtg acc cca ggc gcc ctc ctg ggc ctg agc aat ctc 688  
Gly Ala Val Lys Val Thr Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Ser Asn Leu  
190 195 200

acc cat ctg tct ctg aag tat aac aac ctc aca aag gtg ccc cgc caa 736  
Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Lys Val Pro Arg Gln  
205 210 215

ctg ccc ccc agc ctg gag tac ctc ctg gtg tcc tat aac ctc att gtc 784  
Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Val Ser Tyr Asn Leu Ile Val  
220 225 230

aag ctg ggg cct gaa gac ctg gcc aat ctg acc tcc ctt cga gta ctt 832  
Lys Leu Gly Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu

235

240

245

gat gtg ggt ggg aat tgc cgt cgc tgc gac cat gcc ccc aat ccc tgt 880

Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys

250

255

260

265

ata gaa tgt ggc caa aag tcc ctc cac ctg cac cct gag acc ttc cat 928

Ile Glu Cys Gly Gln Lys Ser Leu His Leu His Pro Glu Thr Phe His

270

275

280

cac ctg agc cat ctg gaa ggc ctg gtg ctg aag gac agc tct ctc cat 976

His Leu Ser His Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu His

285

290

295

aca ctg aac tct tcc tgg ttc caa ggt ctg gtc aac ctc tcg gtg ctg 1024

Thr Leu Asn Ser Ser Trp Phe Gln Gly Leu Val Asn Leu Ser Val Leu

300

305

310

gac cta agc gag aac ttt ctc tat gaa agc atc aac cac acc aat gcc 1072

Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Glu Ser Ile Asn His Thr Asn Ala

315

320

325

ttt cag aac cta acc cgc ctg cgc aag ctc aac ctg tcc ttc aat tac 1120

Phe Gln Asn Leu Thr Arg Leu Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr

330

335

340

345

cgc aag aag gta tcc ttt gcc cgc ctc cac ctg gca agt tcc ttc aag 1168

Arg Lys Lys Val Ser Phe Ala Arg Leu His Leu Ala Ser Ser Phe Lys

350

355

360

aac ctg gtg tca ctg cag gag ctg aac atg aac ggc atc ttc ttc cgc 1216  
Asn Leu Val Ser Leu Gln Glu Leu Asn Met Asn Gly Ile Phe Phe Arg  
365 370 375

tcg ctc aac aag tac acg ctc aga tgg ctg gcc gat ctg ccc aaa ctc 1264  
Ser Leu Asn Lys Tyr Thr Leu Arg Trp Leu Ala Asp Leu Pro Lys Leu  
380 385 390

cac act ctg cat ctt caa atg aac ttc atc aac cag gca cag ctc agc 1312  
His Thr Leu His Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser  
395 400 405

atc ttt ggt acc ttc cga gcc ctt cgc ttt gtg gac ttg tca gac aat 1360  
Ile Phe Gly Thr Phe Arg Ala Leu Arg Phe Val Asp Leu Ser Asp Asn  
410 415 420 425

cgc atc agt ggg cct tca acg ctg tca gaa gcc acc cct gaa gag gca 1408  
Arg Ile Ser Gly Pro Ser Thr Leu Ser Glu Ala Thr Pro Glu Glu Ala  
430 435 440

gat gat gca gag cag gag gag ctg ttg tct gcg gat cct cac cca gct 1456  
Asp Asp Ala Glu Gln Glu Glu Leu Leu Ser Ala Asp Pro His Pro Ala  
445 450 455

cca ctg agc acc cct gct tct aag aac ttc atg gac agg tgt aag aac 1504  
Pro Leu Ser Thr Pro Ala Ser Lys Asn Phe Met Asp Arg Cys Lys Asn  
460 465 470

ttc aag ttc acc atg gac ctg tct cgg aac aac ctg gtg act atc aag 1552  
Phe Lys Phe Thr Met Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Lys  
475 480 485

cca gag atg ttt gtc aat ctc tca cgc ctc cag tgt ctt agc ctg agc 1600  
Pro Glu Met Phe Val Asn Leu Ser Arg Leu Gln Cys Leu Ser Leu Ser  
490 495 500 505

cac aac tcc att gca cag gct gtc aat ggc tct cag ttc ctg ccg ctg 1648  
His Asn Ser Ile Ala Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu  
510 515 520

act aat ctg cag gtg ctg gac ctg tcc cat aac aaa ctg gac ttg tac 1696  
Thr Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr  
525 530 535

cac tgg aaa tcg ttc agt gag cta cca cag ttg cag gcc ctg gac ctg 1744  
His Trp Lys Ser Phe Ser Glu Leu Pro Gln Leu Gln Ala Leu Asp Leu  
540 545 550

ggc tac aac agc cag ccc ttt agc ata aag ggt ata ggc cac aat ttc 1792  
Gly Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser Ile Lys Gly Ile Gly His Asn Phe  
555 560 565

agt ttt gtg gcc cat ctg tcc atg cta cac agc ctt agc ctg gca cac 1840  
Ser Phe Val Ala His Leu Ser Met Leu His Ser Leu Ser Leu Ala His  
570 575 580 585

aat gac att cat acc cgt gtg tcc tca cat ctc aac agc aac tca gtg 1888

Asn Asp Ile His Thr Arg Val Ser Ser His Leu Asn Ser Asn Ser Val  
590 595 600

agg ttt ctt gac ttc agc ggc aac ggt atg ggc cgc atg tgg gat gag 1936  
Arg Phe Leu Asp Phe Ser Gly Asn Gly Met Gly Arg Met Trp Asp Glu  
605 610 615

ggg ggc ctt tat ctc cat ttc ttc caa ggc ctg agt ggc ctg ctg aag 1984  
Gly Gly Leu Tyr Leu His Phe Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Leu Lys  
620 625 630

ctg gac ctg tct caa aat aac ctg cat atc ctc cgg ccc cag aac ctt 2032  
Leu Asp Leu Ser Gln Asn Asn Leu His Ile Leu Arg Pro Gln Asn Leu  
635 640 645

gac aac ctc ccc aag agc ctg aag ctg ctg agc ctc cga gac aac tac 2080  
Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys Leu Leu Ser Leu Arg Asp Asn Tyr  
650 655 660 665

cta tct ttc ttt aac tgg acc agt ctg tcc ttc ctg ccc aac ctg gaa 2128  
Leu Ser Phe Phe Asn Trp Thr Ser Leu Ser Phe Leu Pro Asn Leu Glu  
670 675 680

gtc cta gac ctg gca ggc aac cag cta aag gcc ctg acc aat ggc acc 2176  
Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Thr  
685 690 695

ctg cct aat ggc acc ctc ctc cag aaa ctg gat gtc agc agc aac agt 2224  
Leu Pro Asn Gly Thr Leu Leu Gln Lys Leu Asp Val Ser Ser Asn Ser



700 705 710  
atc gtc tct gtg gtc cca gcc ttc ttc gct ctg gcg gtc gag ctg aaa 2272  
Ile Val Ser Val Val Pro Ala Phe Phe Ala Leu Ala Val Glu Leu Lys  
715 720 725  
gag gtc aac ctc agc cac aac att ctc aag acg gtg gat cgc tcc tgg 2320  
Glu Val Asn Leu Ser His Asn Ile Leu Lys Thr Val Asp Arg Ser Trp  
730 735 740 745  
ttt ggg ccc att gtg atg aac ctg aca gtt cta gac gtg aga agc aac 2368  
Phe Gly Pro Ile Val Met Asn Leu Thr Val Leu Asp Val Arg Ser Asn  
750 755 760  
cct ctg cac tgt gcc tgt ggg gca gcc ttc gta gac tta ctg ttg gag 2416  
Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Val Asp Leu Leu Leu Glu  
765 770 775  
gtg cag acc aag gtg cct ggc ctg gct aat ggt gtg aag tgt ggc agc 2464  
Val Gln Thr Lys Val Pro Gly Leu Ala Asn Gly Val Lys Cys Gly Ser  
780 785 790  
ccc ggc cag ctg cag ggc cgt agc atc ttc gca cag gac ctg cgg ctg 2512  
Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu  
795 800 805  
tgc ctg gat gag gtc ctc tct tgg gac tgc ttt ggc ctt tca ctc ttg 2560  
Cys Leu Asp Glu Val Leu Ser Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu  
810 815 820 825

gct gtg gcc gtg ggc atg gtg gtg cct ata ctg cac cat ctc tgc ggc 2608  
Ala Val Ala Val Gly Met Val Val Pro Ile Leu His His Leu Cys Gly  
830 835 840

tgg gac gtc tgg tac tgt ttt cat ctg tgc ctg gca tgg cta cct ttg 2656  
Trp Asp Val Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Leu  
845 850 855

ctg gcc cgc agc cga cgc agc gcc caa gct ctc ccc tat gat gcc ttc 2704  
Leu Ala Arg Ser Arg Arg Ser Ala Gln Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe  
860 865 870

gtg gtg ttc gat aag gca cag agc gca gtt gcg gac tgg gtg tat aac 2752  
Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn  
875 880 885

gag ctg cgg gtg cgg ctg gag ggg cgg cgc ggt cgc cga gcc cta cgc 2800  
Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu Gly Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg  
890 895 900 905

ttg tgt ctg gag gac cga gat tgg ctg cct ggc cag acg ctc ttc gag 2848  
Leu Cys Leu Glu Asp Arg Asp Trp Leu Pro Gly Gln Thr Leu Phe Glu  
910 915 920

aac ctc tgg gct tcc atc tat ggg agc cgc aag act cta ttt gtg ctg 2896  
Asn Leu Trp Ala Ser Ile Tyr Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu  
925 930 935

gcc cac acg gac cgc gtc agt ggc ctc ctg cgc acc agc ttc ctg ctg 2944  
Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Thr Ser Phe Leu Leu  
940 945 950

gct cag cag cgc ctg ttg gaa gac cgc aag gac gtg gtg gtg ttg gtg 2992  
Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val  
955 960 965

atc ctg cgt ccg gat gcc cac cgc tcc cgc tat gtg cga ctg cgc cag 3040  
Ile Leu Arg Pro Asp Ala His Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln  
970 975 980 985

cgt ctc tgc cgc cag agt gtg ctc ttt tgg ccc cag cag ccc aac ggg 3088  
Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Phe Trp Pro Gln Gln Pro Asn Gly  
990 995 1000

cag ggg ggc ttc tgg gcc cag ctg agt aca gcc ctg act agg gac 3133  
Gln Gly Gly Phe Trp Ala Gln Leu Ser Thr Ala Leu Thr Arg Asp  
1005 1010 1015

aac cgc cac ttc tat aac cag aac ttc tgc cgg gga cct aca gca 3178  
Asn Arg His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Ala  
1020 1025 1030

gaa tag ctgagagcaa cagctggaaa cagctgcac ttcctgcctg gttcccgagt 3234  
Glu

tgctctgcct gccttgctct gtcttactac accgctattt ggcaagtgcg caatatatgc 3294

taccaagcca ccgggccac ggagcaaagg ttggctgtaa agggta

3340

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 1032

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 6

Met Val Leu Arg Arg Arg Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln  
1 5 10 15

Ala Ala Val Leu Ala Glu Thr Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe  
20 25 30

Leu Pro Cys Glu Leu Lys Pro His Gly Leu Val Asp Cys Asn Trp Leu  
35 40 45

Phe Leu Lys Ser Val Pro Arg Phe Ser Ala Ala Ala Ser Cys Ser Asn  
50 55 60

Ile Thr Arg Leu Ser Leu Ile Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asn  
65 70 75 80

Ser Asp Phe Val His Leu Ser Asn Leu Arg Gln Leu Asn Leu Lys Trp  
85 90 95

Asn Cys Pro Pro Thr Gly Leu Ser Pro Leu His Phe Ser Cys His Met

100	105	110
Thr Ile Glu Pro Arg Thr Phe Leu Ala Met Arg Thr Leu Glu Glu Leu		
115	120	125
Asn Leu Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Thr Val Pro Arg Leu Pro Ser Ser		
130	135	140
Leu Val Asn Leu Ser Leu Ser His Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Ala		
145	150	155
		160
Asn Ser Leu Ala Gly Leu Tyr Ser Leu Arg Val Leu Phe Met Asp Gly		
165	170	175
Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Thr Gly Ala Val Lys Val Thr Pro		
180	185	190
Gly Ala Leu Leu Gly Leu Ser Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr		
195	200	205
Asn Asn Leu Thr Lys Val Pro Arg Gln Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr		
210	215	220
Leu Leu Val Ser Tyr Asn Leu Ile Val Lys Leu Gly Pro Glu Asp Leu		
225	230	235
		240
Ala Asn Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg		
245	250	255

Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys Ile Glu Cys Gly Gln Lys Ser  
260 265 270

Leu His Leu His Pro Glu Thr Phe His His Leu Ser His Leu Glu Gly  
275 280 285

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu His Thr Leu Asn Ser Ser Trp Phe  
290 295 300

Gln Gly Leu Val Asn Leu Ser Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu  
305 310 315 320

Tyr Glu Ser Ile Asn His Thr Asn Ala Phe Gln Asn Leu Thr Arg Leu  
325 330 335

Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr Arg Lys Lys Val Ser Phe Ala  
340 345 350

Arg Leu His Leu Ala Ser Ser Phe Lys Asn Leu Val Ser Leu Gln Glu  
355 360 365

Leu Asn Met Asn Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Asn Lys Tyr Thr Leu  
370 375 380

Arg Trp Leu Ala Asp Leu Pro Lys Leu His Thr Leu His Leu Gln Met  
385 390 395 400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Thr Phe Arg Ala  
405 410 415

Leu Arg Phe Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Pro Ser Thr  
420 425 430

Leu Ser Glu Ala Thr Pro Glu Glu Ala Asp Asp Ala Glu Gln Glu Glu  
435 440 445

Leu Leu Ser Ala Asp Pro His Pro Ala Pro Leu Ser Thr Pro Ala Ser  
450 455 460

Lys Asn Phe Met Asp Arg Cys Lys Asn Phe Lys Phe Thr Met Asp Leu  
465 470 475 480

Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Lys Pro Glu Met Phe Val Asn Leu  
485 490 495

Ser Arg Leu Gln Cys Leu Ser Leu Ser His Asn Ser Ile Ala Gln Ala  
500 505 510

Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu Thr Asn Leu Gln Val Leu Asp  
515 520 525

Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Trp Lys Ser Phe Ser Glu  
530 535 540

Leu Pro Gln Leu Gln Ala Leu Asp Leu Gly Tyr Asn Ser Gln Pro Phe  
545 550 555 560

Ser Ile Lys Gly Ile Gly His Asn Phe Ser Phe Val Ala His Leu Ser

Met Leu His Ser Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Thr Arg Val  
565 570 575

580 585 590

Ser Ser His Leu Asn Ser Asn Ser Val Arg Phe Leu Asp Phe Ser Gly  
595 600 605

Asn Gly Met Gly Arg Met Trp Asp Glu Gly Gly Leu Tyr Leu His Phe  
610 615 620

Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Leu Lys Leu Asp Leu Ser Gln Asn Asn  
625 630 635 640

Leu His Ile Leu Arg Pro Gln Asn Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu  
645 650 655

Lys Leu Leu Ser Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ser Phe Phe Asn Trp Thr  
660 665 670

Ser Leu Ser Phe Leu Pro Asn Leu Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn  
675 680 685

Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Thr Leu Pro Asn Gly Thr Leu Leu  
690 695 700

Gln Lys Leu Asp Val Ser Ser Asn Ser Ile Val Ser Val Val Pro Ala  
705 710 715 720



Phe Phe Ala Leu Ala Val Glu Leu Lys Glu Val Asn Leu Ser His Asn  
725 730 735

Ile Leu Lys Thr Val Asp Arg Ser Trp Phe Gly Pro Ile Val Met Asn  
740 745 750

Leu Thr Val Leu Asp Val Arg Ser Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly  
755 760 765

Ala Ala Phe Val Asp Leu Leu Leu Glu Val Gln Thr Lys Val Pro Gly  
770 775 780

Leu Ala Asn Gly Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg  
785 790 795 800

Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Val Leu Ser  
805 810 815

Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Ala Val Ala Val Gly Met Val  
820 825 830

Val Pro Ile Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Val Trp Tyr Cys Phe  
835 840 845

His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Leu Leu Ala Arg Ser Arg Arg Ser  
850 855 860

Ala Gln Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln  
865 870 875 880

Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu  
885 890 895

Gly Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Asp Arg Asp  
900 905 910

Trp Leu Pro Gly Gln Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Ile Tyr  
915 920 925

Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser  
930 935 940

Gly Leu Leu Arg Thr Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu  
945 950 955 960

Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala His  
965 970 975

Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val  
980 985 990

Leu Phe Trp Pro Gln Gln Pro Asn Gly Gln Gly Gly Phe Trp Ala Gln  
995 1000 1005

Leu Ser Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Gln  
1010 1015 1020

Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Ala Glu

1025

1030

<210> 7

<211> 3332

<212> DNA

<213> Felis Catus

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1952)..(1952)

<223> "n"=A, T, G or C

<220>

<221> CDS

<222> (88)..(3183)

<223>

<400> 7

aagggtctgc gagctccagg cattcttctc tgccatcgct gcccagtctg ccatccagac 60

cctctggaga agccccact ccctgtc atg ggc ccc tgc cat ggc gcc ctg cac 114

Met Gly Pro Cys His Gly Ala Leu His

1

5

ccc ctg tct ctc ctg gtg cag gct gcc gcg ctg gcc gtg gcc ctg gcc 162

Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ala Ala Leu Ala Val Ala Leu Ala

10

15

20

25

cag ggc acc ctg cct gcc ttt ctg ccc tgt gag ctc cag cgc cac ggc 210  
Gln Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Gln Arg His Gly  
30 35 40

ctg gtg aat tgc gac tgg ctg ttc ctc aag tcc gtg ccc cac ttc tcg 258  
Leu Val Asn Cys Asp Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser  
45 50 55

gcg gca gcg ccc cgt ggt aac gtc acc agc ctt tcc ctg tac tcc aac 306  
Ala Ala Ala Pro Arg Gly Asn Val Thr Ser Leu Ser Leu Tyr Ser Asn  
60 65 70

cgc atc cac cac ctc cac gac tcc gac ttt gtc cac ctg tcc agc ctg 354  
Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu  
75 80 85

cgg cgt ctc aac ctc aaa tgg aac tgc cca ccc gcc agc ctc agc ccc 402  
Arg Arg Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Ala Ser Leu Ser Pro  
90 95 100 105

atg cac ttc ccc tgt cac atg acc att gag ccc cac acc ttc ctg gcc 450  
Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile Glu Pro His Thr Phe Leu Ala  
110 115 120

gtg ccc acc ctg gag gag ctg aac ctg agc tac aac agc atc acg aca 498  
Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr  
125 130 135

gta ccc gcc ctg ccc agt tcc ctc gtg tcc ctg tcc ttg agc cgt acc 546  
Val Pro Ala Leu Pro Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr  
140 145 150

aac atc ctg gtg ctg gac cct gcc aac ctc gca ggg ctg cac tcc ctg 594  
Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Ala Asn Leu Ala Gly Leu His Ser Leu  
155 160 165

cgc ttt ctg ttc ctg gat ggc aac tgc tac tat aag aac ccc tgc ccg 642  
Arg Phe Leu Phe Leu Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Pro  
170 175 180 185

cag gcc ctg cag gtg gcc ccg ggc gcc ctc ctt ggc ctg ggc aac ctt 690  
Gln Ala Leu Gln Val Ala Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu  
190 195 200

acg cac ctg tca ctc aag tac aac aac ctc act gcg gtg ccc cgc ggc 738  
Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Ala Val Pro Arg Gly  
205 210 215

ctg ccc ccc agc ctg gag tac ctg cta ttg tcc tac aac cac atc atc 786  
Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Ile  
220 225 230

acc ctg gca cct gag gac ctg gcc aac ctg acc gcc ctg cgt gtg ctc 834  
Thr Leu Ala Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu  
235 240 245

gat gtg ggt gga aac tgc cgt cgc tgt gac cac gcc cgc aac ccc tgt 882

Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys  
 250 255 260 265

atg gag tgc ccc aag ggc ttc ccg cac ctg cac cct gac acc ttc agc 930  
 Met Glu Cys Pro Lys Gly Phe Pro His Leu His Pro Asp Thr Phe Ser  
 270 275 280

cac ctg aac cac ctc gaa ggc ctg gtg ttg aag gac agc tct ctc tac 978  
 His Leu Asn His Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr  
 285 290 295

aac ctg aac ccc aga tgg ttc cat gcc ctg ggc aac ctc atg gtg ctg 1026  
 Asn Leu Asn Pro Arg Trp Phe His Ala Leu Gly Asn Leu Met Val Leu  
 300 305 310

gac ctg agt gag aac ttc cta tat gac tgc atc acc aaa acc aca gcc 1074  
 Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala  
 315 320 325

ttc cag ggc ctg gcc cag ctg cgc aga ctc aac ttg tct ttc aat tac 1122  
 Phe Gln Gly Leu Ala Gln Leu Arg Arg Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr  
 330 335 340 345

cac aag aag gtg tcc ttt gcc cac ctg cat ctg gcg ccc tcc ttc ggg 1170  
 His Lys Lys Val Ser Phe Ala His Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly  
 350 355 360

agc ctg ctc tcc ctg cag cag ctg gac atg cat ggc atc ttc ttc cgc 1218  
 Ser Leu Leu Ser Leu Gln Gln Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg

365 370 375  
tcg ctc agc gag acc acg ctc cgg tcg ctg gtc cac ctg ccc atg ctc 1266  
Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Arg Ser Leu Val His Leu Pro Met Leu  
380 385 390  
cag agt ctg cac ctg cag atg aac ttc atc aat cag gcc cag ctc agc 1314  
Gln Ser Leu His Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser  
395 400 405  
atc ttc ggg gcc ttc cct ggc ctg cga tac gtg gac ctg tca gac aac 1362  
Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn  
410 415 420 425  
cgc ata agt gga gcc atg gag ctg gcg gct gcc acg ggg gag gtg gat 1410  
Arg Ile Ser Gly Ala Met Glu Leu Ala Ala Ala Thr Gly Glu Val Asp  
430 435 440  
ggt ggg gag aga gtc cgg ctg cca tct ggg gac cta gct ctg ggc cca 1458  
Gly Gly Glu Arg Val Arg Leu Pro Ser Gly Asp Leu Ala Leu Gly Pro  
445 450 455  
ccg ggc acc cct agc tcc gag ggc ttc atg cca ggc tgc aag acc ctc 1506  
Pro Gly Thr Pro Ser Ser Glu Gly Phe Met Pro Gly Cys Lys Thr Leu  
460 465 470  
aac ttc acc ttg gac ctg tca cgg aac aac cta gtg aca atc cag cca 1554  
Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Pro  
475 480 485

gag atg ttt gcc cgg ctc tcg cgc ctc cag tgc ctg ctc ctg agc cgc 1602  
Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg Leu Gln Cys Leu Leu Leu Ser Arg  
490 495 500 505

aac agc atc tcg cag gca gtc aac ggc tca caa ttt atg ccg ctg acc 1650  
Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Met Pro Leu Thr  
510 515 520

agc ctg cag gtg ctg gac ctg tcc cat aac aag ctg gac ctg tac cat 1698  
Ser Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His  
525 530 535

ggg cgc tct ttc acg gag ctg ccg cgg ctg gag gcc ctg gac ctc agc 1746  
Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser  
540 545 550

tac aac agc cag ccc ttc agc atg cag ggc gtg ggt cac aac ctc agc 1794  
Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser Met Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser  
555 560 565

ttt gtg gca cag ctg ccg gcc ctg cgc tat ctc agc ctg gcg cac aac 1842  
Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn  
570 575 580 585

gac atc cac agc cgt gtg tcc cag cag ctc tgc agc gcc tcg ctg cgg 1890  
Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Arg  
590 595 600



gcc ttg gac ttc agc ggc aat gcc ttg agc cgg atg tgg gcc gag gga 1938  
Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Ala Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly  
605 610 615

gac ctg tat ctc cnc ttc ttc cga ggc ctg agg agc ctg gtc cgg ttg 1986  
Asp Leu Tyr Leu Xaa Phe Phe Arg Gly Leu Arg Ser Leu Val Arg Leu  
620 625 630

gat ctg tcc cag aat cgc ctg cat acc ctc ttg cca cgc acc ctg gac 2034  
Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu His Thr Leu Leu Pro Arg Thr Leu Asp  
635 640 645

aac ctc ccc aag agc ctg cgg ctg ctg cgt ctc cgt gac aat tat ctg 2082  
Asn Leu Pro Lys Ser Leu Arg Leu Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu  
650 655 660 665

gct ttc ttc aac tgg agc agc ctg gtc ctc ctc ccc agg ctg gaa gcc 2130  
Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu Val Leu Leu Pro Arg Leu Glu Ala  
670 675 680

ctg gac ctg gcg gga aac cag ctg aag gcc ctg agc aac ggc agc ttg 2178  
Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu  
685 690 695

cct aat gga acc cag ctc cag agg ctg gac ctc agc agc aac agt atc 2226  
Pro Asn Gly Thr Gln Leu Gln Arg Leu Asp Leu Ser Ser Asn Ser Ile  
700 705 710

agc ttc gtg gcc tcc agc ttt ttt gct ctg gcc acc agg ctg cga gag 2274

Ser Phe Val Ala Ser Ser Phe Phe Ala Leu Ala Thr Arg Leu Arg Glu  
 715 720 725

ctc aac ctc agt gcc aac gcc ctc aag acg gtg gag ccc tcc tgg ttc 2322  
 Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe  
 730 735 740 745

ggt tct cta gcg ggc acc ctg aaa gtc cta gat gtg act ggc aac ccc 2370  
 Gly Ser Leu Ala Gly Thr Leu Lys Val Leu Asp Val Thr Gly Asn Pro  
 750 755 760

ctg cac tgc gcc tgc ggg gcg gcc ttc gtg gac ttc ttg ctg gag gtg 2418  
 Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Val Asp Phe Leu Leu Glu Val  
 765 770 775

cag gct gca gtg ccc ggc ctg cca ggc cac gtc aag tgt ggc agt cca 2466  
 Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Gly His Val Lys Cys Gly Ser Pro  
 780 785 790

ggt cag ctc cag ggc cgc agc atc ttt gcg cag gat ctg cgc ctc tgc 2514  
 Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys  
 795 800 805

ctg gat gag gcc ctc tcc tgg gac tgt ttt ggc ctc tcg ctg ctg acc 2562  
 Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Thr  
 810 815 820 825

gtg gcc ctg ggc ctg gcc gtg ccc atg ctg cac cac ctc tgt ggc tgg 2610  
 Val Ala Leu Gly Leu Ala Val Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp

830	835	840	
gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc ctg gcc tgg ctg ccc cgg cgg 2658			
Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Arg Arg			
845	850	855	
ggg cgg cgg cgg ggc gcg gat gcc ctg ccc tac gat gcc ttt gtg gtc 2706			
Gly Arg Arg Arg Gly Ala Asp Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val			
860	865	870	
ttc gac aag gca cag agc gcg gtg gcc gac tgg gtg tac aac gag ctg 2754			
Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu			
875	880	885	
cgg gta cgg cta gag gag cgc cgt gga cgc cga gcg ctc cgc ctg tgc 2802			
Arg Val Arg Leu Glu Glu Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys			
890	895	900	905
ctg gag gaa cgt gac tgg cta ccc ggt aaa acg ctc ttt gag aac ctg 2850			
Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu			
910	915	920	
tgg gcc tca gtt tac agc agc cgc aag atg ctg ttt gtg ctg gcc cac 2898			
Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg Lys Met Leu Phe Val Leu Ala His			
925	930	935	
aca gac agg gtc agc ggc ctc ttg cgc gcc agc ttt ctg ctg gcc cag 2946			
Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln			
940	945	950	

cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac gtt gtg gtg ctg gtg atc ctg 2994  
Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu  
955 960 965

cgc ccc gac gcc cac cgc tcc cgc tat gtg cgg ctg cgc cag cgc ctc 3042  
Arg Pro Asp Ala His Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu  
970 975 980 985

tgc cgc cag agc gtc ctc ctc tgg ccc cac cag ccc agt ggc cag cgc 3090  
Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg  
990 995 1000

agc ttc tgg gcc cag ctg ggc acg gcc ctg acc agg gac aac cag 3135  
Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Gln  
1005 1010 1015

cac ttc tat aac cag aac ttc tgc cgg ggc ccc acg acg gca gag 3180  
His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu  
1020 1025 1030

tga ccgccagca cccaagcct cctacacctt gcctgtctgc ctgggatgcc 3233

gggcctgctg gccctgcaac accactgctc tgcctcccca actccacccc ctggcatata 3293

gcagatgctc aataaatgct actagtaggc tgaacggct 3332

<211> 1031

<212> PRT

<213> Felis Catus

<220>

<221> misc\_feature

<222> (622)..(622)

<223> The 'Xaa' at location 622 stands for His, Arg, Pro, or Leu.

<400> 8

Met Gly Pro Cys His Gly Ala Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln

1 5 10 15

Ala Ala Ala Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Gly Thr Leu Pro Ala Phe

20 25 30

Leu Pro Cys Glu Leu Gln Arg His Gly Leu Val Asn Cys Asp Trp Leu

35 40 45

Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Gly Asn

50 55 60

Val Thr Ser Leu Ser Leu Tyr Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp

65 70 75 80

Ser Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Arg Leu Asn Leu Lys Trp

85 90 95

Asn Cys Pro Pro Ala Ser Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met

100 105 110  
Thr Ile Glu Pro His Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu  
115 120 125  
Asn Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Ser Ser  
130 135 140  
Leu Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro  
145 150 155 160  
Ala Asn Leu Ala Gly Leu His Ser Leu Arg Phe Leu Phe Leu Asp Gly  
165 170 175  
Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Pro Gln Ala Leu Gln Val Ala Pro  
180 185 190  
Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr  
195 200 205  
Asn Asn Leu Thr Ala Val Pro Arg Gly Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr  
210 215 220  
Leu Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Ile Thr Leu Ala Pro Glu Asp Leu  
225 230 235 240  
Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg  
245 250 255

Arg Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Met Glu Cys Pro Lys Gly Phe  
260 265 270

Pro His Leu His Pro Asp Thr Phe Ser His Leu Asn His Leu Glu Gly  
275 280 285

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asn Pro Arg Trp Phe  
290 295 300

His Ala Leu Gly Asn Leu Met Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu  
305 310 315 320

Tyr Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Gln Leu  
325 330 335

Arg Arg Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala  
340 345 350

His Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly Ser Leu Leu Ser Leu Gln Gln  
355 360 365

Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu  
370 375 380

Arg Ser Leu Val His Leu Pro Met Leu Gln Ser Leu His Leu Gln Met  
385 390 395 400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly  
405 410 415

Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Met Glu  
420 425 430

Leu Ala Ala Ala Thr Gly Glu Val Asp Gly Gly Glu Arg Val Arg Leu  
435 440 445

Pro Ser Gly Asp Leu Ala Leu Gly Pro Pro Gly Thr Pro Ser Ser Glu  
450 455 460

Gly Phe Met Pro Gly Cys Lys Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser  
465 470 475 480

Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Pro Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser  
485 490 495

Arg Leu Gln Cys Leu Leu Leu Ser Arg Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val  
500 505 510

Asn Gly Ser Gln Phe Met Pro Leu Thr Ser Leu Gln Val Leu Asp Leu  
515 520 525

Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu  
530 535 540

Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser  
545 550 555 560

Met Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala



565                      570                      575

Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser  
580                      585                      590

Gln Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn  
595                      600                      605

Ala Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Xaa Phe Phe  
610                      615                      620

Arg Gly Leu Arg Ser Leu Val Arg Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu  
625                      630                      635                      640

His Thr Leu Leu Pro Arg Thr Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Arg  
645                      650                      655

Leu Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser  
660                      665                      670

Leu Val Leu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln  
675                      680                      685

Leu Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Asn Gly Thr Gln Leu Gln  
690                      695                      700

Arg Leu Asp Leu Ser Ser Asn Ser Ile Ser Phe Val Ala Ser Ser Phe  
710                      715                      720

Phe Ala Leu Ala Thr Arg Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala  
725 730 735

Leu Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Leu Ala Gly Thr Leu  
740 745 750

Lys Val Leu Asp Val Thr Gly Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala  
755 760 765

Ala Phe Val Asp Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu  
770 775 780

Pro Gly His Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser  
785 790 795 800

Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp  
805 810 815

Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Thr Val Ala Leu Gly Leu Ala Val  
820 825 830

Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His  
835 840 845

Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Arg Arg Gly Arg Arg Arg Gly Ala Asp  
850 855 860

Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala  
865 870 875 880

Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu Glu Arg  
885 890 895

Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu  
900 905 910

Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser  
915 920 925

Arg Lys Met Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu  
930 935 940

Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg  
945 950 955 960

Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala His Arg Ser  
965 970 975

Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu  
980 985 990

Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly  
995 1000 1005

Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Gln His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe  
1010 1015 1020

Cys Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu

1025

1030

<210> 9

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 9

tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt

24

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 10

tccatgacgt tcctgacgtt

20

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 11

agactgggta cctggcaaga

20

<210> 12

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 12

gctattcdgc dgtdggac

18

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 13

caacctgaaa gtcctagacg

20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 14

ggcagaagtt ccggttatag

20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 15

agctacaaca gccagccctt

20

<210> 16

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 16

aggcgcagtg cagagggtt

19

<210> 17

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 17

ctgcgcaagc tcaacctgt

19

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 18

aagggtggc tgtttagct

20

<210> 19

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 19

ctgccttcct accctgtga

19

<210> 20

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 20

gtggtaatg aaggacaggt t

21



<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 21

gcagttccac ttgaggttga

20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 22

acgaagtcag agtcgtgcaa

20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 23

aggaagagcc agttgcagtt

20

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 24

ctgaaagtc tagacgtgag

20

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 25

tcttgccagg taaccagtct

20

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 26

ggacctctgg tactgcttcc a

21

<210> 27

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 27

aagctcgttg tacaccagt ct

22

<210> 28

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 28

gaaggtgaag gtcggagtc

19

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 29

gaagatggtg atgggatttc

20

<210> 30

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 30

gtggaactgt ttggcatc

19

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 31

cacagcactc tgagctttgt

20

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 32

tggcattgtc atggactctg

20

<210> 33

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 33

aggggcgatg atcttgatct

20

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 34

gggcacagcc ctgaccagg

20

【図面の簡単な説明】

【図 1】 ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。下線はシグナルペプチド領域を示す。

【図 2】 ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。図 1 の続きを示す。下線は膜貫通領域を示す。

【図 3】 ブタTLR9のSMARTによるドメイン解析を示す図である。

【図 4】 TLR9 アミノ酸配列のアライメントを示す図である。

【図 5】 TLR9 アミノ酸配列のアライメントを示す図である。図 4 の続きを示す。

【図 6】 トランスフェクタントにおけるブタTLR9のRT-PCR法による発現解析を示す写真である。

【図 7】 トランスフェクタントにおけるブタTLR9の発現とCpG DNAの取り込み解析を示す図である。a ; 抗FLAG抗体による解析を示す。b ; 抗ブタTLR9抗体による解析を示す。c ; CpG DNAの取り込み解析を示す。図中の矢印 (1) はコントロール細胞のCpG1826および2006の取り込みを示し、矢印 (2) はトランスフェクタントにおけるCpG1826を示し、矢印 (3) はトランスフェクタントにおけるCpG2006を示す。

【図 8】 トランスフェクタントの共焦点レーザー顕微鏡による解析を示す写真である。a, b, c ; 対照細胞、d, e, f ; ブタTLR9トランスフェクタントを示す。a, d ; 抗FLAG抗体による解析を示す。b, e ; 抗ブタTLR9抗体による解析を示す。c, f ; CpG DNAの取り込み解析を示す。

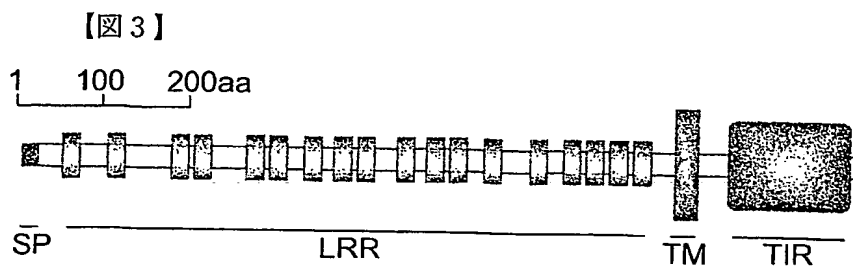
【図 9】 real-time定量PCRによるブタTLR9の各種組織における発現解析を示す図である。





【圖 2】

1561	A G C T C G G G T G T G A C T G T C C A C A A G C T G A C T G T A T C A G G G G C C T G G T T C	1620	2341	C T G G C C T G C C A G C G G C G G T C A G T G G C A G T G T C G G C A C T C A G G C C A T A G C A T C	2400
S L R V L D L S H N K L D L Y H G R S F	P G L P S R V K C G S P G Q L Q G H S I				
1621	A O G A C T G C G C C T G E A G A C T G A C C T C A G T A C A C A G C A G C C C T T T A C A T G	1680	2401	T T T G C C A G A C C T G C C C C T C T G C C T G A T A G A C C C T C T G T G A A C T G T T T T G C A T C	2460
T E L P R L E A L D L S Y N S Q P F T M	F A Q D L R L C L D E T L S W N C F G I				
1681	C A G G G T G G G C C A C A C T C A G C T T G T G C C C A G T C G C G C C C T G C C T A C T A C C	1740	2461	T C C T G C T G C C A T G C C C C T G C C C T G C C C T G T T G T G C C A T C T T G C G C C T G C	2520
Q G V G H N L S F V A Q L P A L R Y L S	S L L A M A L G L V V P M L H H L C G W				
1741	C T G C C C A C A T G A C T C A T A G C G A G T G C C A G C T C T G A C G C C T C A C T G T G C	1800	2521	G A C C T C T G T A C T C T C T C A C C T G T G C C T G C C T G C C T G C C C A G C C A G C C G C G	2580
L A H N D I H S R V S Q Q L C S A S L C	D L W Y C F H L C L A W L P H R G Q R R				
1801	G C C T G C A C T T T A G C C C A C A C T C A G C G G A T G G G C T G A G G A C T C T A T C T C	1860	2581	G C C C A G C G C C C T G T C T A T A G A T G C C T T G C T G G T T T T G C A A G C T C A G A G T C T G T G	2640
A L D F S G N D L S R M W A E G D L Y L	G A D A L F Y D A F V V F D K A Q S A V				
1861	C B T T C T T C A G C C T A G A G C T A G T C T G C T G A C C T G T C C A G A A C A C C T G A C	1920	2641	G C C A C T G G G T A C A C A C C T G C G G T G C A C T G C A G C G A G C G C C C G T G C G G C G C A	2700
R F F Q G L R S L V W L D L S Q N H L H	A D W V Y N E L R V Q L E E R R G R R A				
1921	A C C C T C T G C A G T G C C C T G A C A C C T C C C A A A G C T G A G A C T C T A C T C C G T	1980	2701	C T G C C C T G T G C C T G A G G A G C A C T G T T A C C T G C A G A C C T C T C A G A C C T G	2760
T L L P R A L D N L P K S L K H L H L R	L R L C L E E R D W L P G K T L F E N L				
1981	G A C A T A C C T G C C T C T C A C T G A G A C C C T G A C C C T C T G C C C A G C C A G C C A C C	2040	2761	T G C C C T C A G T A C A C A C C C A G A C C C C A G A C C C T G T G T G T G C C C A C A C C G A C C G T C	2820
D N N L A F F N W S S L T L L P K L E T	W A S V Y S S R K T L F V L A H T D R V				
2041	C T G A C T G C T G A A C C A C T G A G C C C T A G C A T G C A G C C T G C C A T C T G C C A C	2100	2821	A C C G C C C T C T T G C T G C C A G T T C C T G C T G C C C A G C G C C T G C A G A C C C A G	2880
L D L A G N Q L K A L S N G S L P S G T	S G L L R A S F L L A Q Q R L L E D R K				
2101	C A C T T G C G A G C T G A C T C A T G T G C A C A G A C T G C C T T T G A C C C T G C C T C T T	2160	2881	G A C C T G T G A G T C T G T C A T C C T G C C C C A G T C C T C T C T T G C C C C A G C C C T G C C C T G	2940
Q L R R L D L S G N S I G F V N P G F F	D V V V L V I L R P D A Y R S R Y V R L				
2161	G C C C T G C C A G C A G T T A G A G A C T A C C T A C G C C A T G C C C T C A G A C A G T G G A G	2220	2941	C C C C A G C C C T C T G C C G C A G A G T G C T C C T T G C C C C A C A G C C C G T G C C A G G C	3000
A L A K Q L E E L N L S A N A L K T V E	R Q R L C R Q S V L L W P H Q P R G Q G				
2221	C C C T C T G T T G C C T G A T G T G G G A C C T G A A G T C T A G A G T G A G C C C A C C C T	2280	3001	A C C T C T G C C C C A C C T G C C C A G C C C T G A C C C A G C C A C C C C A C C C T T C T A T A C C G	3060
P S W F G S M V G N L K V L D V S A N P	S F W A Q L G T A L T R D N R H F Y N R				
2281	C T G A C T G C C C T G T G C G G C A C C T T G C T G C T G A G A G T A C G C T G C G T G	2340	3061	A A C T C T C C G C G C C C C A C A G C C G A T A G	3093
L H C A C G A T F V G F L L E V Q A A V	N F C R G P T T A E *				



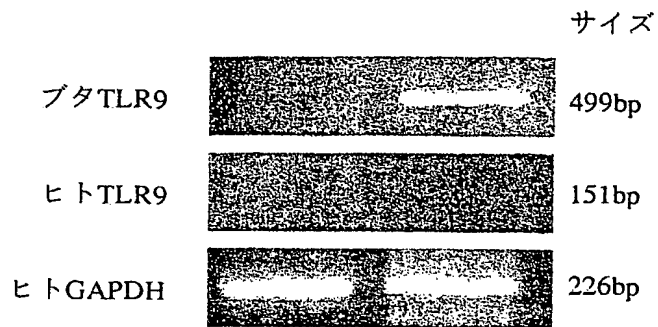
【図4】

フタ	1	MPRT--LHPISLVQVTAALTAQRPAPFCELOPHGLNOMLTKSPHESAA	58	フタ	299	DARFEGIDRLQVLDISENFMDCTKTATQGLARUKMLSENHKKVSEHHLAPS	358
ヒト	1	MF-QSALHPLSLVQALMLAVTALGTLPATLCELOPHGLNOMLTKSPHESAA	59	ヒト	300	NASWEGLAGLRLVLDISENFMDCTKTATQGLARUKMLSENHKKVSEHHLAPS	359
マウス	1	MLRRT-LHPISLVQVTAALTAQRPAPFCELOPHGLNOMLTKSPHESAA	59	マウス	300	ISSWEGLAGLRLVLDISENFMDCTKTATQGLARUKMLSENHKKVSEHHLAPS	359
イエネコ	1	MEP-CHGALHPLSLVQALMLAVTALGTLPATLCELOPHGLNOMLTKSPHESAA	59	イエネコ	300	NPRTWEGLAGLRLVLDISENFMDCTKTATQGLARUKMLSENHKKVSEHHLAPS	359
		***** ** ** ***** ** ***** **				***** ** ** ***** ** ***** **	
フタ	59	APRANTSLSLNRHHLHDSFVHLSLRITNLKNCPPAGLSPHPCMTIEPTE	118	フタ	359	FEHLSKELDMGIFPFSSETTQVLPVLMQTLRQANINQALSIFGAPPGARY	418
ヒト	60	APRANTSLSLNRHHLHDSFVHLSLRITNLKNCPPAGLSPHPCMTIEPTE	119	ヒト	360	FGSLVALKELDMGIFPFSSETTQVLPVLMQTLRQANINQALSIFGAPPGARY	419
マウス	60	ASCNITRSLSLNRHHLHDSFVHLSLRITNLKNCPPAGLSPHPCMTIEPTE	119	マウス	360	FNMLSLQELDMGIFPFSSETTQVLPVLMQTLRQANINQALSIFGAPPGARY	419
イエネコ	60	APRANTSLSLNRHHLHDSFVHLSLRITNLKNCPPAGLSPHPCMTIEPTE	119	イエネコ	360	FGSLSLQELDMGIFPFSSETTQVLPVLMQTLRQANINQALSIFGAPPGARY	419
		***** ** ** ***** ** ***** **				***** ** ** ***** ** ***** **	
フタ	119	LAVPTLEELMSNSTTVPALPSSLSISRNILVDPHTLGLHRLVMDQNCY	178	フタ	419	VLSNRUSGAPVATREVDGR-ERMLPSRLAPPLDITREDFMNCQFSETLD	477
ヒト	120	LAVPTLEELMSNSTTVPALPSSLSISRNILVDPHTLGLHRLVMDQNCY	179	ヒト	420	VLSNRUSGAPVATREVDGR-ERMLPSRLAPPLDITREDFMNCQFSETLD	478
マウス	120	LAVPTLEELMSNSTTVPALPSSLSISRNILVDPHTLGLHRLVMDQNCY	179	マウス	420	VLSNRUSGAPVATREVDGR-ERMLPSRLAPPLDITREDFMNCQFSETLD	479
イエネコ	120	LAVPTLEELMSNSTTVPALPSSLSISRNILVDPHTLGLHRLVMDQNCY	179	イエネコ	420	VLSNRUSGAPVATREVDGR-ERMLPSRLAPPLDITREDFMNCQFSETLD	478
		***** ** ** ***** ** ***** **				***** ** ** ***** ** ***** **	
フタ	179	YNPQCALEWPGALGILGILHLSIKNNLTPPSLPSLETLLSNHVTLPED	238	フタ	478	LSRNLVITQSEWPAHLSLECLRLSNLSIQVNGSGFPLTSRLVDSLHKKLDYHG	537
ヒト	180	YNPQCALEWPGALGILGILHLSIKNNLTPPSLPSLETLLSNHVTLPED	239	ヒト	479	LSRNLVITQSEWPAHLSLECLRLSNLSIQVNGSGFPLTSRLVDSLHKKLDYHG	538
マウス	180	YNPQCALEWPGALGILGILHLSIKNNLTPPSLPSLETLLSNHVTLPED	239	マウス	480	LSRNLVITQSEWPAHLSLECLRLSNLSIQVNGSGFPLTSRLVDSLHKKLDYHG	539
イエネコ	180	YNPQCALEWPGALGILGILHLSIKNNLTPPSLPSLETLLSNHVTLPED	239	イエネコ	479	LSRNLVITQSEWPAHLSLECLRLSNLSIQVNGSGFPLTSRLVDSLHKKLDYHG	538
		***** ** ** ***** ** ***** **				***** ** ** ***** ** ***** **	
フタ	239	LANLALRVLDGNCRCRDHARVCECPHOPKLSHTESHLSRLEGLVMOSSLNL	298	フタ			
ヒト	240	LANLALRVLDGNCRCRDHARVCECPHOPKLSHTESHLSRLEGLVMOSSLNL	299	ヒト			
マウス	240	LANLALRVLDGNCRCRDHARVCECPHOPKLSHTESHLSRLEGLVMOSSLNL	299	マウス			
イエネコ	240	LANLALRVLDGNCRCRDHARVCECPHOPKLSHTESHLSRLEGLVMOSSLNL	299	イエネコ			
		***** ** ** ***** ** ***** **					

【図 5】

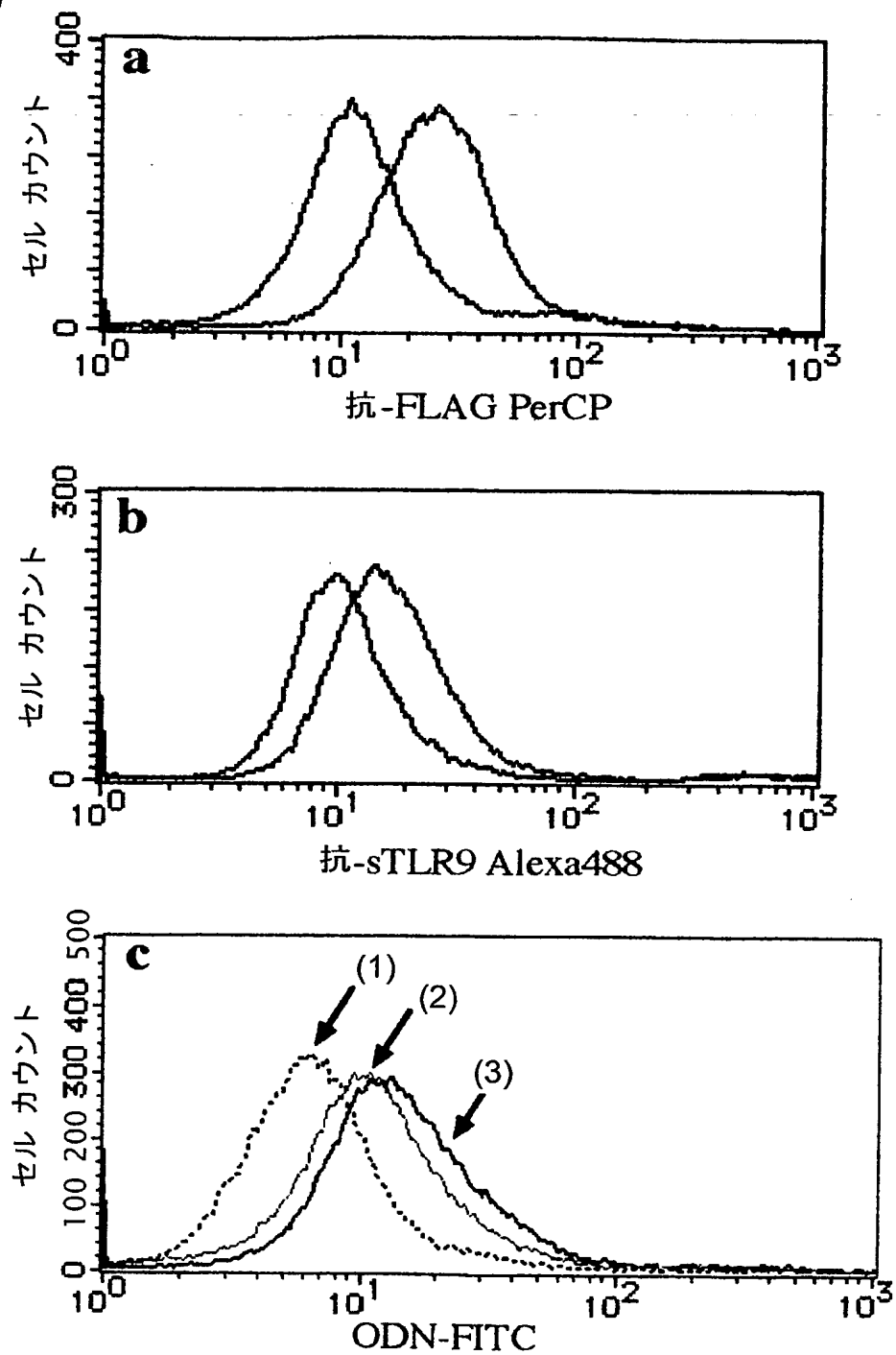
マウス	538	RSFTLPRLDLSNPGFTQGGVNLSTVAQIPALVLSIANDIHSRVSQCSA	597	マウス	836	CGMDUWCFHCLAWLPHRCRRGD--ALFDVAFWFKQSAVADWVNEIRVQLEER	895
ヒト	539	HSFTLPRLDLSNPGFTQGGVNLSTVAQIPALVLSIANDIHSRVSQCSA	598	ヒト	839	CGMDUWCFHCLAWLPHRCRRGD--ALFDVAFWFKQSAVADWVNEIRVQLEER	898
マウス	540	KSFTLPRLDLSNPGFTQGGVNLSTVAQIPALVLSIANDIHSRVSQCSA	599	マウス	840	CGMDUWCFHCLAWLPHRCRRGD--ALFDVAFWFKQSAVADWVNEIRVQLEER	899
マウス	539	RSFTLPRLDLSNPGFTQGGVNLSTVAQIPALVLSIANDIHSRVSQCSA	598	マウス	839	CGMDUWCFHCLAWLPHRCRRGD--ALFDVAFWFKQSAVADWVNEIRVQLEER	896
マウス	598	SIADDFSNALSRWEDGILHFTQGLSELNLDISQNHFTLPRALNPKSLKHL	657	マウス	896	KRRALRUCLEEDNLPKQTFENLWSSVSRKTLFVLAHTRVSGLLRASTLLAQRL	955
ヒト	599	SIADDFSNALSRWEDGILHFTQGLSELNLDISQNHFTLPRALNPKSLKHL	658	ヒト	899	KRRALRUCLEEDNLPKQTFENLWSSVSRKTLFVLAHTRVSGLLRASTLLAQRL	958
マウス	600	SVRTDFSNALSRWEDGILHFTQGLSELNLDISQNHFTLPRALNPKSLKHL	659	マウス	899	KRRALRUCLEEDNLPKQTFENLWSSVSRKTLFVLAHTRVSGLLRASTLLAQRL	958
マウス	599	SIADDFSNALSRWEDGILHFTQGLSELNLDISQNHFTLPRALNPKSLKHL	658	マウス	897	KRRALRUCLEEDNLPKQTFENLWSSVSRKTLFVLAHTRVSGLLRASTLLAQRL	956
マウス	658	HLRDNLAFTNMSLTLPLKLEVDIAGNQLKALNSGSPGTLPRIDLSNISTFVAP	717	マウス	956	LEDRKQWMLVILPRDAHSRVRVLRQRCQSVLLVPHQPSQSFVAQIGALTNRN	1015
ヒト	659	RURDNLAFTNMSLTLPLKLEVDIAGNQLKALNSGSPGTLPRIDLSNISTFVAP	718	ヒト	959	LEDRKQWMLVILPRDAHSRVRVLRQRCQSVLLVPHQPSQSFVAQIGALTNRN	1018
マウス	660	SLRDNLAFTNMSLTLPLKLEVDIAGNQLKALNSGSPGTLPRIDLSNISTFVAP	719	マウス	959	LEDRKQWMLVILPRDAHSRVRVLRQRCQSVLLVPHQPSQSFVAQIGALTNRN	1018
マウス	659	RURDNLAFTNMSLTLPLKLEVDIAGNQLKALNSGSPGTLPRIDLSNISTFVAP	718	マウス	957	LEDRKQWMLVILPRDAHSRVRVLRQRCQSVLLVPHQPSQSFVAQIGALTNRN	1016
マウス	718	GFALAKQLEHNLNALKTVPSNCSMGVLDVSNPLHACGAFVETLEVQ	777	マウス	1016	HFVNRNFCPTTAE	1030
ヒト	719	GFASKNELRLNALKTVPSNCSMGVLDVSNPLHACGAFVETLEVQ	778	ヒト	1019	HFVNRNFCPTTAE	1032
マウス	720	AFALAVELKENVLSHULKTVDPSNCFVMMVTVLDVSNPLHACGAFVETLEVQ	779	マウス	1019	HFVNRNFCPTTAE	1032
マウス	719	SFALATRLNALKTVPSNCSMGVLDVSNPLHACGAFVETLEVQ	778	マウス	1017	HFVNRNFCPTTAE	1031
マウス	778	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	837	マウス	1017	HFVNRNFCPTTAE	1031
ヒト	779	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	838	マウス	779	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	838
マウス	780	TKVPLGLNKGSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	839	マウス	779	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	838
マウス	779	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	838	マウス	779	NAVPLPSRWKQSPQQLQHSIFADQLRUCIDEIISNCFGLSILAVGLVPMHL	838

【図 6】

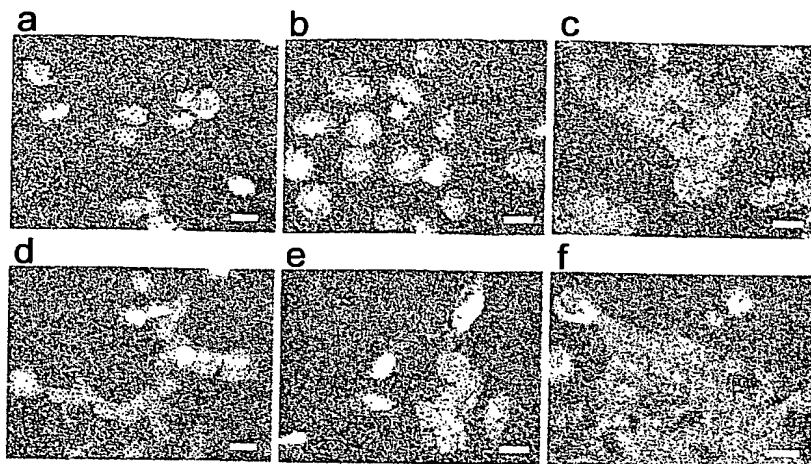


対照  
ブタTLR9  
トランスフェクタント

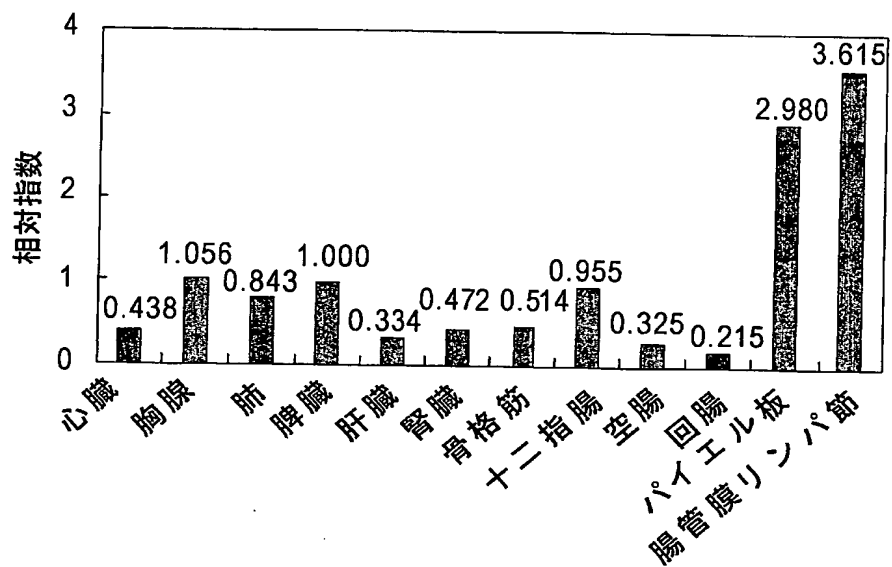
【図7】



【図8】



【図9】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 Toll様レセプター強制発現細胞の利用法を提供することを課題とする。

【解決手段】 Toll様レセプター9 (TLR9) 遺伝子をブタ腸管パイエル板よりクローニングし、ブタTLR9を強制発現させた細胞を作製した。該細胞を用いたCpG DNAに対する機能性解析を行なった結果、ブタTLR9はマウス特異的CpG DNAモチーフ (CpG1826) よりもヒトのCpG DNAモチーフ (CpG2006) に対する認識性が高いことが判明した。さらにReal-time PCR法によりmRNAの発現量を各種組織において比較した結果、腸管免疫系で中心的な役割を果たすパイエル板および腸管膜リンパ節において、脾臓の3倍以上のmRNAが発現していることが判明した。よって、TLR9等の腸管組織において発現しているTLRを強制発現させた細胞は、腸管免疫系を活性化する試料の同定に利用できる。

【選択図】 なし





特願 2003-172132

ページ: 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000006138]

1. 変更年月日

2001年10月 2日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都江東区新砂1丁目2番10号

氏 名

明治乳業株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**